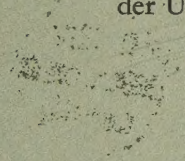
Beiträge zur Kenntnis der Rheumextrakte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae
der hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Bern



Vorgelegt von
Ilse Scherrer,
Apotheker, von Wahlern (Bern)

Zürich 1941

Graphische Etablissemente Conzett & Huber

Beiträge zur Kenntnis der Rheumextrakte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae
der hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Bern

Vorgelegt von
Ilse Scherrer,
Apotheker, von Wahlern (Bern)

Zürich 1941

Graphische Etablissemente Conzett & Huber

Von der medizinischen Fakultät auf Antrag des Referenten, Herrn Privatdozent Dr. H. Mühlemann, und des Korreferenten, Herrn Professor Dr. P. Casparis, als Dissertation angenommen.

Bern, den 17. Juli 1941.

Der Dekan:

Prof. Bluntschli.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde im pharmazeutischen Institut der Universität Bern ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. P. Casparis und Herrn Privatdozent Dr. H. Mühlemann, unter dessen Leitung die Arbeit entstand, an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank für die freundliche Unterstützung auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547621_0046

Meinen Eltern und meiner Freundin Jane Béguin
gewidmet

Inhaltsübersicht

I. Einleitung 7

II. Experimenteller Teil

1. Darstellung der Extrakte 16
   a) Ausgangsmaterial 16
   b) Bereitung eines Extraktes aus einer mit verdünntem Weingeist stabilisierten Droge 16
   c) Bereitung eines Extraktes nach Ph. H. V 17
   d) Bereitung eines Extraktes aus einer mit Weingeist stabilisierten Droge 18
   e) Darstellung der Fluidextrakte 19

2. Physiologische Prüfung von Droge und Extrakten 20
   a) Physiologische Versuche an weissen Mäusen 20
   b) Prüfung der Wirksamkeit am Menschen 25

3. Einfluss der Aufbewahrung auf die Wirksamkeit von Droge, Trocken- und Fluidextrakten 30
   a) Droge 30
   b) Trockenextrakte 31
   c) Fluidextrakte 32

4. Ursachen der Wirkungseinbusse bei den Fluidextrakten 42
   a) Biologische Einflüsse 42
   b) Physikalische Einflüsse 47
   c) Chemische Einflüsse 47
   d) Versuche der Herstellung eines stabilen Extraktes aus frischer Droge 49

5. Isolierungsversuch der wirksamen Bestandteile des Rhabarbers 53
   a) Entfernen der Anthrachinone aus dem Rhabarber 53
   b) Aufarbeitung der Droge durch fraktionierte Extraktion 63

III. Zusammenfassung der Resultate 78

I. Einleitung

Die Kunst, Heilmittel herzustellen, wurde schon seit frühester Zeit ausgeübt. Erst neuerdings ist man jedoch darangegangen, auch die theoretischen Grundlagen der angewandten Pharmazie auszubauen.

Die Zusammenfassung aller Erfahrungen, wissenschaftlichen Forschungen und Begründungen für die Zubereitung und Haltbarkeit der Arzneimittel ist heute unter der Bezeichnung «galenische Pharmazie» ein selbständiger Zweig der pharmazeutischen Wissenschaft geworden.

Es ist daher nicht erstaunlich, dass die neue Schweizerische Pharmakopoe (Ph. H. V), sich auf die bisherigen Ergebnisse der galenischen Pharmazie stützend, stark verbesserte Vorschriften aufweist, aber bei vielen Präparaten im Vergleich zu der Ph. H. IV auch strengere Anforderungen stellt.

Eine Arzneiform, die in der neuen Pharmazie wesentlich anders dasteht, ist diejenige der Extrakte.

Bei dem Bestreben der modernen Arzneiverordnungslehre, dem Organismus die notwendigen Heilmittel in möglichst leicht assimilierbarer Form zuzuführen, ist es begreiflich, dass die Extrakte den eigentlichen Drogen immer mehr vorgezogen werden. Dies um so mehr, als die modernen Extraktionsverfahren ganz darauf gerichtet sind, den Pflanzen wirklich nur die gewünschten, heilbringenden Stoffe zu entziehen.

Ein gutes Arzneimittel muss haltbar sein, d. h. es soll sich wenigstens für eine gewisse Zeit in bezug auf Wirksamkeit und Aussehen nicht verändern. Leider ist es aber bis heute für gewisse Präparate der Pharmakopoe nicht möglich, diese Forderung unbedingt zu erfüllen. Zu diesen zählen gewisse trockene und in noch vermehrtem Masse ein Teil der Fluidextrakte.

Die Ph. H. IV wies noch fünf Extraktarten auf, von den flüssigen

über die eingedickten bis zu den festen. Aus Gründen der Haltbarkeit, Dosierung und Aufbewahrung behielt die Ph. H. V nur noch zwei Extraktformen bei: die Extracta sicca oder Trockenextrakte und die Extracta fluida oder flüssigen Extrakte. Bei den Extracta sicca der Ph. H. V. ist die Forderung der Haltbarkeit weitgehend erfüllt, d. h. sie sind lange Zeit fast unverändert haltbar, vorausgesetzt, dass sie wirklich trocken sind und trocken über Kalk und unter Lichtschutz aufbewahrt werden. Bei den Fluidextrakten liegen die Verhältnisse etwas anders. Lösungen aller Art sind im allgemeinen Veränderungen viel mehr ausgesetzt als trockene Substanzen. Dabei spielt neben dem Lösungsmittel oft auch der Alkaligehalt der Gefässe eine Rolle, oder aber es sind Fermente aus der Droge oder Pilze und Bakterien, die von aussen in die Lösung gelangen können, an der Veränderung beteiligt. Für diese beiden letzteren stellen feuchte Extrakte gute Nährböden dar, und es ist dies ein Grund mehr, warum die Ph. H. V die Extracta spissa des früheren Arzneibuches nicht mehr aufgenommen hat.

Bei den Fluidextrakten, die mehr oder weniger dickflüssig sind, ist die Gefahr einer Zersetzung durch Pilze weniger gross, da diese Lösungen meist alkoholhaltig sind, so dass trotz eventuell vorhandenem Zucker, Schleimsubstanzen usw. die Entwicklungsfähigkeit von Bakterien sehr gehemmt ist. Es wird im Verlaufe der nachfolgend beschriebenen Untersuchungen noch auf diesen Punkt zurückgekommen werden.

Die Ph. H. V erklärt von ihren fünfzehn Fluidextrakten nur drei als beschränkt haltbar, indem sie zu der Aufbewahrung dieser drei Präparate bemerkt: «nicht länger als 3 Monate». Es handelt sich dabei um Extr. Rhamni frangulae fluidum, Extr. Rhamni purshiani fluidum und Extr. Rhei fluidum, von denen das flüssige Rhabarberextrakt in der vorliegenden Arbeit näher behandelt werden soll.

Rhabarber ist eine der meistgeschätzten und -gebrauchten Pflanzen aus dem Drogenschatz aller Zeiten und Völker, was sich auch in seiner Zugehörigkeit zu den sechs «Prinzipes» ausdrückt. Die Wurzel wurde von den Chinesen schon im 3. Jahrtausend v. Chr. als Magen- und mildes Abführmittel verwendet, und China, vor allem die Provinz Shensi und die Gegend um den Kukunor-See, ist auch heute noch das

klassische Produktionsland des echten, guten Rhabarbers. Früh schon wurde die Wurzel in Europa eingeführt und in neuerer Zeit mit gutem Erfolg auch kultiviert. Mit der zunehmenden Beliebtheit der Droge wuchs auch das Interesse an deren chemischer Beschaffenheit. Es gibt wohl wenig Pflanzen, deren Inhaltsstoffe so oft und so gründlich erforscht worden sind wie diejenigen des Rhabarbers. Auf die vielen Arbeiten, deren erste schon aus dem Jahre 1752 stammen[1] und von Neumann in dem Werk «Chymia medica» zusammengestellt wurden, näher einzugehen, ist hier nicht der Ort, doch mag festgehalten sein, dass es vor allem Tschirch und Heuberger gelang, etwas Licht in die chemische Zusammensetzung des Rhabarbers zu bringen[2]. Nach diesen Autoren sind im Rhabarber zwei antagonistisch wirkende Körpergruppen enthalten, nämlich die adstringierenden «Tannoglykoside» und die für die Abführwirkung verantwortlichen Di- und Trioxymethylanthrachinone und deren Glykoside, die sogenannten «Anthraglykoside»[3]. Diese Auffassung, dass die Anthraglykoside für die abführende Wirkung verantwortlich zu machen seien, wurde noch durch die Tatsache erhärtet, dass es unabhängig von Tschirch kurze Zeit später Gilson gelang[4], eine abführende Komplexverbindung von vier Anthrachinonglykosiden zu isolieren, die er Rheopurgarin nannte[5]. Die Ansicht, dass wirklich diese Anthrachinonderivate und nur diese die abführend wirkenden Bestandteile des Rhabarberrhizoms seien, schien so fest verankert, dass von verschiedenen Forschern eine ganze Zahl Wertbestimmungsmethoden ausgearbeitet wurden[6], die alle auf der Basis einer spektralanalytischen, kolorimetrischen oder gravimetrischen Anthrachinonbestimmung beruhen.

Zweifel, dass nur die Anthrachinone und deren Glykoside abführend wirken, kamen erst nach einer Veröffentlichung der englischen

---

[1] Neumann: Chymia medica 1752, II, 3. Teil, S. 65.
[2] Tschirch und Heuberger: Arch. d. Pharm. **240,** S. 596—630 (1902). Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. **36,** S. 237—244 (1898).
[3] Tschirch: Heil- und Gewürzpfl. III, S. 10 (1919/20).
Tschirch: Handb. d. Pharmakognosie II, 2, S. 1382.
[4] Gilson: Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap. XIV, 455 (1905).
[5] Gilson: Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap. XIV, 502 (1905).
[6] Göldlin: Diss. Basel 1924, S. 12—20.

Autoren Tutin und Clever[7] auf, die aus dem Rhizom neben den schon bekannten Anthrachinonen und Glykosiden ein braunes Harz isolierten, das viel stärker wirksam war als diese Abkömmlinge der Anthrazengruppe. Hierzu sei bemerkt, dass Tschirch und Heuberger ein Vorhandensein von Harzen in der Droge rundweg ablehnten[8].

Im Jahre 1915 fand Wasicky[9], dass die im Frühjahr geerntete Droge stark abführend wirkt, aber nicht die durch Rotfärbung mit Laugen sich verratenden freien Anthrachinone besitzt. Kroeber erklärte nach experimentellen Versuchen[10], dass «ein vom Hauptanteil seiner Anthrachinonderivate befreites Rheumpulver noch unveränderte Wirksamkeit zeige». Auch Casparis und Göldlin kamen zu der Auffassung, dass die wirksamsten Stoffe Reduktionsprodukte der Anthrachinone darstellen[11], indem sie durch Einleiten von Luftsauerstoff in eine alkalische Lösung von Rhabarberextrakt eine starke Zunahme der Anthrachinone feststellten. Diese Ansicht wurde bestätigt durch die Arbeiten von Wasicky und Heinz[12] sowie Tukats[13], die auf das Vorhandensein von Anthranolen (= Reduktionsprodukte von Anthrachinonen) schlossen.

Alle diese Tatsachen zeigen, dass die bis dahin ausgearbeiteten Gehaltsbestimmungsmethoden keinen Aufschluss über den wirklichen therapeutischen Wert der Droge geben können, was noch durch die Feststellung von Casparis und Göldlin[14] bestätigt wird, dass beim Lagern eines Extraktes von Rheum der Anthrachinongehalt steigt, die physiologische, laxative Wirkung jedoch abnimmt. Auch Astruc sagte: «Les extraits à glucosides voient ceux-ci se dédoubler peu à peu[15].» Dass der Rhabarber mit der Zeit an Wirksamkeit ein-

[7] Tutin und Clever: Transact. Chem. Soc. **99,** S. 946 (1911).
[8] Tschirch und Heuberger: Arch. d. Pharm. **240,** S. 629 (1902).
[9] Wasicky: Deutsche bot. Gesellschaft **33,** S. 37 (1915).
[10] Kroeber: Schweiz. Apoth. Ztg. 1923, S. 236.
[11] Casparis und Göldlin: Schweiz. Apoth. Ztg. 1923, S. 504. Göldlin: Diss. Basel 1924, S. 55.
[12] Wasicky und Heinz: Pharm. Monatshefte Nr. 12, 5 (1924).
[13] Tukats: Pharm. Monatshefte 1924, S. 77.
[14] Casparis und Göldlin: Schweiz. Apoth. Ztg. 1923, S. 504.
[15] Astruc: Traité de pharmacie galénique I, S. 321.

büsst, beschrieb schon Neumann in seinem Werk «Chymia medica» (1752). Göldlin stellte diese alte und im Laufe der Zeit immer wieder bestätigte Feststellung in Beziehung zu der Zunahme der Anthrachinone[16]. Nach seiner Meinung handelt es sich ja bei den wirksamsten Substanzen im Rhizom und dementsprechend auch im Extrakt um Reduktionsprodukte von Anthrachinonen. Wenn diese wirksamen Körper bei der allmählichen Oxydation durch den Luftsauerstoff in Anthrachinone übergehen, nehmen diese zu, die Wirkung aber ab. Er hat diese Theorie an weissen Mäusen aufs schönste praktisch bestätigt. Auch Hecht[17] konstatierte eine Zunahme der Anthrachinone beim Altern des Rhabarbers. Genau so wie sich Rhizom und Trockenextrakt verändern, verhält sich auch das flüssige Extrakt. Es ist sogar aus den schon eingangs erwähnten Gründen in vermehrtem Masse Veränderungen unterworfen, indem ausser der Oxydation durch den Luftsauerstoff auch noch fermentative oder durch Bakterien bedingte Spaltungen wie auch Zersetzungserscheinungen rein hydrolytischer Art auftreten können.

Die Ergebnisse der Arbeiten von Casparis und Göldlin, dass nämlich bei der Lagerung von Rhabarberextrakten deren Wirksamkeit abnimmt, währenddem der Anthrachinongehalt steigt einerseits, und die Aufbewahrungsvorschrift der Ph. H. V für Extr. Rhei fluidum[18] andrerseits, waren der Anlass zu den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen. Es sollte geprüft werden, wodurch die Zersetzung der Rhabarberfluidextrakte bewirkt wird und wie man zu einem haltbaren Präparat gelangen könnte.

Was nun die Herstellung der Rhabarberextrakte betrifft, ist Paracelsus der eigentliche Begründer der Extrakte im allgemeinen (um 1550). Wohl kannte man vorher schon Drogenauszüge in Form von Abkochungen oder Sirupen, doch waren diese meist schlecht haltbar. Die Einführung von dickflüssigen und später trockenen Extrakten bedeutete aber nicht nur in dieser Beziehung eine grosse Verbesserung. Die Medizin war von jeher darauf bedacht, dem Organismus die notwendigen Heilmittel in unschädlicher und nicht belastender Form

[16] Göldlin: Diss. Basel 1924, S. 53.
[17] Hecht: Heil- und Gewürzpfl. **14,** S. 43 (1931/32).
[18] Ph. H. V, S. 356.

zuzuführen. Infolgedessen wurden die Extrakte als viel günstiger eingeschätzt als die Drogen selbst. Es ist nicht zu vermeiden, dass die Extrakte neben den Wirkstoffen noch Ballaststoffe enthalten, wie z. B. Kohlehydrate, Fermente, anorganische und organische Salze, die aber die gewünschte Wirkung des Präparates nicht stören sollen. Andere schädliche Begleitstoffe aber sollen in einem guten Extrakt fehlen, indem manchmal Drogen neben den wirksamen Bestandteilen Substanzen mit ganz unerwünschter oder direkt schädlicher Wirkung enthalten. Meistens aber handelt es sich um unwirksame und auch harmlose Bestandteile, wie Harze, Eiweissstoffe, Wachse, Chlorophyll u. a. m. Es sei hier nur auf die unerwünschten, drastisch wirkenden Substanzen der Aloe hingewiesen, die im Extrakt derselben nicht mehr vorhanden sind.

In der vorliegenden Arbeit wurden in bezug auf Rheum ähnliche, wenn auch nicht so typische Beobachtungen gemacht. Dass beim Rhabarber der Wirkungsunterschied zwischen der Droge und dem daraus bereiteten Extrakt nicht so stark wie bei der Aloe sein kann, geht z. B. auch daraus hervor, dass auch heute noch beide nebeneinander verwendet werden. Tatsächlich wird Rhiz. Rhei als solches in Pulvermischungen aller Art und in Tablettenform heutzutage fast noch ebensoviel verschrieben wie das Extrakt, das mehr in Pillen verordnet wird. Hier sei noch kurz erwähnt, dass auch die Ph. H. V noch ein Präparat enthält, das als hauptwirksamen Bestandteil Rhiz. Rhei pulv. enthält, nämlich Pulv. Magnesiae compositus granulatus.

Bei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Droge handelte es sich stets um Rhiz. Rhei (Shensi), das von einem schweizerischen Drogenhandelshaus bezogen worden war. Die Droge genügte allen Anforderungen des Schweiz. Arzneibuches vollständig.

Die Dekoktion als Darstellungsmethode für Extractum Rhei ist in den meisten Arzneibüchern heute verlassen worden, da sie viele Nachteile aufweist. An ihrer Stelle wurden bald überall andere Extraktionsverfahren verwendet[19]. So schrieben die Ph. H. I und die Ph. H. II eine kalte Mazeration mit Wasser vor, gefolgt von Eindampfen auf dem Wasserbade. Das so erhaltene trockene Extrakt war dementsprechend in Wasser klar löslich. Da mit Wasser allein

[19] Astruc: Traité de pharmacie galénique I, S. 309ff.

schlecht filtrierbare, viskose Extraktbrühen entstehen, wurde in der Ph. H. III das Rhizom durch eine Dimazeration mit verdünntem Weingeist extrahiert, was ein in Wasser nur trübe, in verdünntem Alkohol aber klar lösliches Extrakt zur Folge hat. Von den bekannteren Arzneibüchern verwendet nur die Pharmacopoea austriaca VIII noch die einfache Mazeration, währenddem die Pharmacopée Belge IV, der Codex medicamentarius gallicus (= Pharmacopée française II), die Pharmacopoea danica VIII und das Deutsche Arzneibuch VI eine Dimazeration mit Wasser oder mit verdünntem Spiritus vorschreiben.

Die Einführung der Perkolation in die Pharmazie durch die beiden französischen Apotheker Boullay zu Anfang des 19. Jahrhunderts bedeutete einen grossen Fortschritt auf dem Gebiete der Extraktbereitung. Diese Methode, die auf einer Deplacierung der Drogeninhaltsstoffe durch das Menstruum beruht, wurde hauptsächlich von den Amerikanern Squibb[20], Grahame[21] und Procter[22] ausgebaut und fand dann Eingang in die meisten bedeutenderen Arzneibücher. Um nur einige zu nennen, seien hier die amerikanische, englische, niederländische und schweizerische Pharmakopoe erwähnt. In der Schweiz wurde dieses Verfahren für die Darstellung von Extrakten zum erstenmal in der Ph. H. III (1893) vorgeschrieben. Der dortige Arbeitsvorgang entspricht im wesentlichen der Methode, die 1882 in die amerikanische Pharmakopoe aufgenommen worden war. Auch die konische Perkolatorform nach Squibb ist heute allgemein gebräuchlich.

Moderne Extraktionsverfahren[23] beruhen auf dem Zutropfprinzip des Menstruums. Dieses wird entweder unter Druck durch die Droge gepresst (Diakolation nach Breddin[24]) oder im Vakuum durch diese hindurchgesaugt (Mulkolation und Evakolation nach Kessler). Diese Methoden sind jedoch noch zu wenig erprobt, um in einem Arzneibuch offiziell aufgenommen zu werden.

---

[20] Squibb: Americ. Journ. Pharmac. **30,** S. 97 (1858).
[21] Grahame: Americ. Journ. Pharmac. **30,** S. 354 (1858).
[22] Procter: Americ. Journ. Pharmac. **31,** S. 317 (1859).
[23] Pharm. Ztg. **77,** S. 1040 (1932).
[24] Pharm. Ztg. **75,** S. 336 (1930).

Das Verfahren, wie es die neue Schweizerische Pharmakopoe V angibt, ist eigentlich eine Kombination von Mazeration und Perkolation, die eine zweckmässige Erschöpfung der Droge gestattet. Die Vorschrift lautet folgendermassen[25]:

«100 Teile Rhabarberpulver, durch Absieben durch Sieb V vom feineren Pulver befreit, werden mit 60 Teilen einer Mischung von 36 Teilen Weingeist und 64 Teilen Wasser gleichmässig durchfeuchtet, 24 Stunden bedeckt stehen gelassen, durch Sieb III geschlagen und in einen Perkolator gebracht. Auf die Droge wird so viel der Weingeist-Wasser-Mischung gegeben, bis die Flüssigkeit durch die untere Oeffnung des Perkolators abzutropfen beginnt, worauf diese geschlossen wird. Die Droge muss alsdann mit einer 2 cm hohen Flüssigkeitsschicht bedeckt werden. Man lässt 5 Tage lang stehen und lässt sodann 200 Teile Perkolat abfliessen. Hierauf wird der Perkolator geschlossen und die Droge nochmals mit der angegebenen Weingeist-Wasser-Mischung wie oben bedeckt. Nach dreitägigem Stehenlassen lässt man in gleicher Weise wie das erstemal abfliessen und vollständig ablaufen. Der Perkolationsrückstand wird ausgepresst und filtriert, das Filtrat mit den Extraktflüssigkeiten vereinigt, 24 Stunden lang in die Kälte (höchstens $+5^{0}$) gestellt, wenn nötig filtriert und unter vermindertem Druck unterhalb 50^{0} zur Trockne eingedampft.»

Aus diesem Trockenextrakt wird nun neuerdings das Fluidextrakt durch Auflösen in einem Weingeist-Wasser-Gemisch hergestellt, während früher die Fluidextrakte meist direkt aus der Droge bereitet wurden.

Flüssige Extrakte wurden zuerst in die amerikanische Pharmakopoe als «fluid extracts», dann in die englische als «liquid extracts» eingeführt. In Frankreich waren flüssige Extrakte schon lange gebräuchlich als Extraits fluides, dits «américains». Die wässerigen Auszüge wurden von den alkoholischen sehr bald verdrängt, da die letzteren bedeutend besser haltbar sind[26]. Dies ist vielleicht auch ein Grund, warum die flüssigen Extrakte in den Arzneibüchern so viel weniger zahlreich sind als die Extracta sicca oder die Tinkturen.

Die Darstellung der Fluidextrakte kann heute auf verschiedene Arten erfolgen, entweder durch Mazeration, Perkolation, Diakolation[27] der Droge oder, wie schon erwähnt, durch Auflösen des Trockenextraktes in einem geeigneten, meist weingeistigen Lösungsmittel. Für Extr. Rhei fluidum finden wir z. B. in der Pharmacopée Belge IV die Mazeration mit anschliessendem Einengen.

---

[25] Ph. H. V, S. 354.
[26] Astruc: Traité de pharmacie galénique I, S. 321.
[27] Toft Madsen: Pharm. Ztg. **77**, S. 1040 (1932).
Breddin: Pharm. Ztg. **75**, S. 336 (1930).

Beispiele für die Perkolation finden sich für Extr. Rhei fluidum in der Ph. H. IV und für Extr. Rhei liquid. im British Pharmaceutical Codex 1934. Bei letzterem Präparat werden zwei Perkolate aufgefangen, wovon das zweite eingedickt und im ersten gelöst wird. Das D. A. B. 6 schreibt für Fluidextrakte allgemein die Perkolation vor, wobei die Anwendung von Druck, entsprechend der Bruns'schen Pressperkolation[28], empfohlen wird.

Eine andere Art der Darstellung von flüssigen Rhabarberextrakten, nämlich eine solche durch Auflösen von Trockenextrakt in verdünntem Spiritus, findet sich in dem finnischen Vorschriftenbuch «Pharmaca 1940» und im 5. Schweizerischen Arzneibuch. Die genaue Vorschrift der Ph. H. V lautet[29]:

«35 Teile Rhabarbertrockenextrakt werden in einer Mischung von 25 Teilen Weingeist und 40 Teilen Wasser gelöst und nach mehrtägigem Stehenlassen an einem kühlen Orte, wenn nötig, filtriert.»

---

[28] Rapp: Pharm. Ztg. 1926, S. 685.
[29] Ph. H. V, S. 356.

II. Experimenteller Teil

1. Darstellung der Extrakte

a) Ausgangsmaterial

Die aus dem Handel bezogenen Stücke von Rhiz. Rhei Shensi 3/4 mundatum wurden zerklopft und auf Siebgrösse IV pulverisiert. Einzelne Stücke, die wohl infolge ungenügenden Trocknens im Innern nicht hart und rötlich, sondern eher grau waren und Schimmel aufwiesen, wurden ausgeschaltet. Das Pulver wurde mittelst eines Siebes V von den feineren Anteilen befreit.

Aus dieser pulverisierten Droge wurden drei verschiedene Extrakte hergestellt, nämlich ein Extrakt (A) aus der mit verdünntem Alkohol stabilisierten Droge, ein Extrakt (B) nach Ph. H. V und endlich ein Extrakt (C) aus der mit konzentriertem Alkohol stabilisierten Droge. Die Stabilisation von Extrakt A und C bezweckte das Abtöten der eventuell vorhandenen Fermente.

b) Bereitung eines Extraktes aus einer mit verdünntem Weingeist stabilisierten Droge

In einem Rundkolben, der oben mit einem Rückflusskühler versehen war, wurden 5 Liter eines Gemisches von 36 Teilen Alkohol und 64 Teilen Wasser, entsprechend dem Menstruum der Ph. H. V, zum Sieden gebracht. In die heisse Mischung wurden 1285 g Drogenpulver gegeben und 30 Minuten lang gekocht. Die Pulvermasse wurde dabei schleimig und hatte fast alle Flüssigkeit aufgesogen. Das Ganze wurde nun mit weiteren 2 Liter des obigen Extraktionsgemisches in einen Perkolator gebracht und darin während 5

Tagen verschlossen stehengelassen. Nach dieser Zeit konnte die Extraktbrühe leider nicht zum Abtropfen gebracht werden, da sie infolge des Stabilisierens der Droge sehr schleimig geworden war, was zum grössten Teil auf die Verkleisterung der Stärke zurückzuführen sein dürfte. Das Gemisch wurde daher noch einen Tag lang ausgerührt und hernach scharf abgepresst. Der Rückstand wurde erneut mit 7 Liter des schon genannten Alkohol-Wasser-Gemisches während 3 Tagen ausgerührt und wieder abgepresst. Da die Droge unverhältnismässig stark verquollen war, musste, um die Extraktbrühe vollständig aus ihr zu entfernen, ein Druck angewandt werden, dem auch die stärksten der üblichen Koliertücher nicht standhielten. Sie musste daher in einer elektrischen Zentrifuge durch Ausschleudern vom Extraktionsmittel befreit werden.

Die vereinigten Extraktbrühen, die von dunkler Farbe, ziemlich dickflüssig und viskos waren, liessen sich nur schwer filtrieren, da die Filter sehr rasch verstopft wurden. Ein befriedigendes Resultat liess sich mittelst des Seitz-Filterapparates erreichen, der mit einer speziellen Asbestfasermasse beschickt wurde. Die Lösung konnte nachher mühelos mit Spezialfiltern für Sirupe der Firma Schleicher & Schüll vollständig geklärt werden. Das Filtrat wurde nun 24 Stunden im Eisschrank bei ca. +1 ° stehengelassen, wobei sich keinerlei Sediment bildete. Das Eindampfen geschah unter vermindertem Druck bei 30—38 ° im Siko-Topf. Es entstand dabei ein Extrakt aus losen Krümeln und Brocken. Ein zurückbleibender zäher Bodensatz konnte im Vakuum-Exsikkator mittelst einer Hochvakuum-Oelpumpe gehoben und auch bis zur Krümelkonsistenz getrocknet werden.

Es wurden 434,5 g eines gelbbraunen, lockeren Extraktes erhalten, das den typischen Geruch und bitteren Geschmack des Rhabarbers aufwies. Das Extrakt entsprach den Pharmakopoe-Anforderungen vollständig. Die Ausbeute entspricht 33,82 % des Rhizoms. Dieses Extrakt wird fernerhin als Extrakt A bezeichnet werden.

c) Bereitung eines Extraktes nach Ph. H. V

1285 g des unter a) genannten Drogenpulvers wurden genau nach den Proportionen des Arzneibuches mit 780 g des Alkohol-Wasser-

Gemisches (siehe unter b) gleichmässig befeuchtet. Nach 24stündigem Stehen wurde die Masse durch Sieb III geschlagen und in einen Perkolator gebracht. Es wurde so viel Menstruum zugegeben, dass die Flüssigkeit unten abtropfte, dann der Hahn geschlossen. Nach fünftägigem Stehenlassen der mit genügend Extraktionsmittel bedeckten Masse wurden 2570 g Perkolat abgelassen. Jetzt erfolgte eine nochmalige Mazeration von 3 Tagen, worauf die gesamte Flüssigkeit abgelassen wurde.

Hierzu ist zu bemerken, dass die Perkolation äusserst langsam vor sich ging. Die in der Pharmakopoe in den allgemeinen Bestimmungen unter Perkolation angegebene Zeit (ca. 1 ccm/min)[30] konnte nicht erreicht werden. Nachdem nichts mehr aus dem Perkolator abtropfte, wurde der noch ziemlich flüssige Brei in der elektrischen Zentrifuge abgeschleudert. Die gesammelten trüben Extraktbrühen wurden wie unter b) durch ein Seitzfilter und hernach durch Spezialfilter geklärt, 24 Stunden bei +1 ° stehengelassen, wobei sich nichts abschied. Das Eindampfen ging im Siko-Topf bei 35—38 ° normal vor sich.

Es entstanden hier 480 g eines ebenfalls lockeren Extraktes mit den von der Pharmakopoe verlangten Eigenschaften. In Prozenten ausgedrückt, ergibt sich folgende Ausbeute:

$$480:1285 = x:100;\ x = 37{,}35\ \%$$

Dieses Extrakt heisst im weiteren Extrakt B.

Die Ausbeute aus einer stabilisierten Droge ist also etwas niedriger als diejenige aus einer nichtstabilisierten, was auf die etwas andere Darstellungsart zurückzuführen ist.

d) Bereitung eines Extraktes aus einer mit Weingeist stabilisierten Droge

2 kg Droge wurden gleich pulverisiert, wie die für Extrakt A und Extrakt B verwendete. Die Stabilisierung geschah durch Kochen in einem mit Rückflusskühler versehenen Rundkolben mit 3600 g 96prozentigem Spiritus während 30 Minuten. Die Masse war, trotz-

[30] Ph. H. V, S. 6.

dem kein Wasser zum Kochen verwendet worden war, schleimig geworden und die Droge stark aufgequollen. Nach dem Erkalten wurden 6400 g Wasser zugefügt, so dass das vom Arzneibuch verlangte Mazerationsgemisch vorlag. Eine Perkolation schien infolge der starken Verquellung und Verschleimung der Droge (wie unter b) aussichtslos, es wurde daher eine Mazeration unter häufigem Schütteln während 5 Tagen vorgenommen. Nach dieser Zeit wurde die Extraktlösung in einer elektrischen Zentrifuge abgeschleudert und der Rückstand erneut mit 10 Liter des genannten Gemisches während 3 Tagen mazeriert. Die Filtration, die Defäkation bei +1 ° und das Eindampfen unter vermindertem Druck bei 35—38 ° erfolgten genau gleich wie bei Extrakt A und B.

Es resultierten hierbei 813 g eines lockeren Extraktes mit den geforderten Eigenschaften. In Prozente umgerechnet, ergeben sich 40,65 % Ausbeute. Dieses dritte Extrakt wird als Extrakt C bezeichnet.

Zusammengefasst, ergibt sich folgendes Bild:

Extrakt A durch Mazeration nach Stabilisieren mit verdünntem Alkohol	= 33,82 %
Extrakt B durch Perkolation nach Ph. H. V	= 37,35 %
Extrakt C durch Mazeration nach Stabilisieren mit konzentriertem Alkohol	= 40,65 %

e) Darstellung der Fluidextrakte

Von dem obenerwähnten selbstdargestellten Extrakt A wurden 280 g in einem Glasstopfenkolben mit einem Gemisch von 200 Teilen Weingeist und 320 Teilen Wasser bis zur vollständigen Auflösung geschüttelt. Da die Lösung sehr dickflüssig wurde, gingen die letzten Teile des Extraktes erst im Verlauf von 4 Tagen vollständig in Lösung.

Ein flüssiges Extrakt B und C wurden je in der gleichen Menge (je 800 g), jedoch unter Anreiben in einem Glasmörser, hergestellt. Trotzdem dauerte es auch hier fast 2 Tage, bis die dicken Lösungen vollständig homogen waren, d. h. bis der aus Extrakt bestehende Bodensatz ganz aufgelöst war.

2. Physiologische Prüfung von Droge und Extrakten

a) Physiologische Versuche an weissen Mäusen

Um auf das eigentliche Thema dieser Arbeit, das Problem der Haltbarkeit des Extr. Rhei fluidum, zu kommen, ist es notwendig, die physiologische Wirksamkeit der verschiedenen Rheumextrakte zu kennen; denn Haltbarkeit und gleichbleibende Wirksamkeit stehen in diesem Falle in direkter Beziehung zueinander.

Die Versuche wurden an weissen Mäusen nach der Methode von Uhlmann[31], die auch Göldlin verwendet hatte, ausgeführt. Den Mäusen, die während 14 Tagen dieselbe Nahrung erhalten hatten, wurde das zu prüfende Drogenpulver oder Extrakt als Emulsion in den Magen eingeführt. Dazu wurde eine Kombination von Gummimagensonde mit einer Recordspritze benutzt, die eine Kalibrierung von 0,005 ccm besass. Die Dosen wurden für ein Mausgewicht von 20 g berechnet und je nach dem effektiven Gewicht der Tiere variiert. Zur Kontrolle wurde dieselbe Dosis immer zwei gleich schweren Mäusen verabreicht. Als Kriterium für positiven Ausfall der Reaktion diente die Entleerung eines breiigen, gelb bis rot gefärbten Stuhles innerhalb 7 Stunden.

Um die Wirksamkeit der Extrakte wirklich vergleichen zu können, wurde auch diejenige des Rhizoms geprüft. Die zu prüfenden Substanzen wurden unmittelbar vor der Verwendung zum Versuch mit einem frisch bereiteten und sofort sterilisierten Mucilago Gummi arabici Ph. H. V zu einer gleichmässigen Suspension angerieben. Alle diese Anreibungen wurden auf einen Gehalt von 10 % eingestellt, d. h. 10 Teile Substanz wurden mit Gummischleim bis 100 ccm ergänzt.

Wirksamkeit des Rhizoms

Zur Prüfung gelangte dieselbe Droge, die zur Extraktbereitung verwendet wurde.

---

[31] Göldlin: Diss. Basel 1924, S. 22.

Tabelle 1 **Wirksamkeit der Ausgangsdroge an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
17,0	0,05	0,042	— —
21,0	0,06	0,063	— —
19,0	0,07	0,045	— —
22,0	0,08	0,088	— —
18,0	0,09	0,081	— —
20,0	0,1	0,1	— —
22,0	**0,2**	0,22	+ —
20,0	0,3	0,3	+ +
19,0	0,4	0,38	+ +
21,0	0,5	0,525	+ +

Aus obiger Tabelle ergibt sich, dass die kleinste wirksame Dosis bei 0,2 ccm, was einer Dosis von 0,02 g Droge entspricht, liegt.

Wirksamkeit der Extrakte

Tabelle 2 **Wirksamkeit des Trockenextraktes A an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
20,0	0,01	0,01	— —
22,0	0,02	0,022	— —
17,0	0,03	0,021	— —
19,0	0,04	0,038	— —
21,0	**0,05**	0,0525	— +
19,0	**0,05**	0,0485	— +
20,0	0,06	0,06	+ +
18,0	0,07	0,063	+ +
17,0	0,08	0,056	+ +
21,0	0,09	0,0945	+ +
20,0	0,1	0,1	+ +
22,0	0,2	0,22	+ +
19,0	0,3	0,285	+ +

Bei diesem Extrakt liegt die Grenze der unteren wirksamen Menge bei 0,05 ccm, entsprechend 0,005 g Extrakt.

Es war zu erwarten, dass Extrakt B dieselben Resultate ergeben würde wie Extrakt A, so dass die Versuche mit ungefähr denselben Dosen angesetzt wurden.

Tabelle 3 **Wirksamkeit des Trockenextraktes B an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
21,0	0,03	0,0315	— —
20,0	**0,04**	0,04	— +
19,0	**0,05**	0,0475	+ —
22,0	0,06	0,063	+ +
18,0	0,07	0,063	+ +
20,0	0,08	0,08	+ +
20,0	0,09	0,09	+ +
22,0	0,1	0,11	+ +
18,0	0,2	0,18	+ +

Die wirksame Menge liegt hier zwischen 0,04 und 0,05 ccm, entsprechend 0,004—0,005 g Extrakt.

Tabelle 4 **Wirksamkeit des Trockenextraktes C an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
22,0	0,03	0,033	— —
20,0	0,04	0,04	— —
18,0	0,05	0,045	— —
17,0	**0,06**	0,042	+ +
21,0	0,07	0,0735	+ +
20,0	0,08	0,08	+ +

Hier liegt die unterste wirksame Dosis bei 0,06 ccm, entsprechend 0,006 g Extrakt.

Beim Vergleichen der Tabellen 2, 3 und 4 fällt die Uebereinstimmung der minimalen wirksamen Dosis auf. Sie liegt durchschnittlich bei 0,05 ccm, was einer Menge von ca. 0,005 g Extrakt entspricht.

Zur Prüfung der Fluidextrakte wurden diese in der Weise mit Gummischleim vermischt, dass eine 10prozentige Lösung in bezug auf Fluidextrakt resultierte.

Tabelle 5 **Wirksamkeit des Fluidextraktes A an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
21,0	0,06	0,063	— —
17,0	0,07	0,047	— —
20,0	0,08	0,08	— —
18,0	0,09	0,081	— —
22,0	**0,1**	0,11	+ —
20,0	**0,2**	0,2	+ +
19,0	0,3	0,285	+ +
18,0	0,4	0,36	+ +

Die kleinste wirksame Dosis liegt bei 0,1—0,2 ccm Emulsion Fluidextrakt, entsprechend 0,01—0,02 g Fluidextrakt, resp. 0,0035 bis 0,0070 g Trockenextrakt.

Tabelle 6 **Wirksamkeit des Fluidextraktes B an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
20,0	0,06	0,06	— —
18,0	0,07	0,063	— —
22,0	0,08	0,088	— —
19,0	0,09	0,0855	— —
21,0	**0,1**	0,105	+ +
23,0	0,2	0,23	+ —
20,0	0,3	0,3	+ +
20,0	0,4	0,4	+ +

Die kleinste wirksame Dosis liegt hier bei 0,1 ccm Fluidextraktemulsion, entsprechend 0,01 g Fluidextrakt, resp. 0,0035 g Trockenextrakt.

Tabelle 7 **Wirksamkeit des Fluidextraktes C an der Maus**

Effektives Mausgewicht	Dosis pro 20 g Maus in ccm	Effektive Dosis in ccm	Wirkung bei 2 Mäusen
18,0	0,06	0,054	— —
21,0	0,07	0,0735	— —
20,0	0,08	0,08	— —
19,0	0,09	0,0855	— —
17,0	0,1	0,07	— —
24,0	**0,2**	0,24	+ +
20,0	0,3	0,3	+ +
19,0	0,4	0,36	+ +

Die kleinste wirksame Dosis liegt bei 0,2 ccm Fluidextraktemulsion, entsprechend 0,02 g Fluidextrakt, resp. 0,007 g Trockenextrakt.

Aus den Tabellen 5, 6 und 7 ist zu ersehen, dass die kleinste abführend wirkende Dosis im Durchschnitt bei 0,15 ccm Fluidextraktemulsion liegt. Diese Menge entspricht einem Gehalt von ca. 0,015 g Fluidextrakt, resp. ca. 0,005 g Trockenextrakt.

Tabelle 8 **Zusammenstellung der kleinsten an der Maus wirksamen Dosen der Extrakte in bezug auf die Ausgangsdroge**

Name des Extraktes	Extraktausbeute in bezug auf die Droge in %	Kleinste gefundene, pro 20 g Maus wirksame Dosis der Ausgangsdroge in g	Kleinste gefundene, pro 20 g Maus wirksame Dosis des Extraktes in g	Kleinste berechnete, pro 20 g Maus wirksame Dosis des Extraktes in g *	Scheinbare Ausbeute an wirksamer Substanz in % **
Trockenextrakt A	33,82	0,02	0,005	0,0068	136
Trockenextrakt B	37,35	0,02	0,005	0,0075	150
Trockenextrakt C	40,65	0,02	0,006	0,0081	135
Fluidextrakt A		0,02	0,01	0,019	190
Fluidextrakt B		0,02	0,01	0,021	210
Fluidextrakt C		0,02	0,02	0,023	105

* Die kleinste, pro 20 g Maus wirksame Dosis der Extrakte lässt sich aus der Extraktausbeute und der kleinsten wirksamen Dosis der Ausgangsdroge berechnen. Wenn z. B. die kleinste wirksame Dosis der Droge bei 0,02 g liegt und bei einer 40prozentigen Extraktausbeute die Wirkstoffe zu 100 % aus der Droge extrahiert worden sind, dann muss die kleinste wirksame Dosis dieses Extraktes 0,008 g betragen.

** Diese scheinbare prozentuale Ausbeute an wirksamer Substanz lässt sich berechnen aus der Wirksamkeit der Droge, unter Voraussetzung einer 100prozentigen Wirkung derselben.

b) Prüfung der Wirksamkeit am Menschen

Es stellten sich eine Anzahl Familienangehörige und Kollegen in liebenswürdiger Weise zu diesen Experimenten zur Verfügung, und ihnen sei an dieser Stelle für die prompte Durchführung der verlangten und nicht immer sehr angenehmen Versuche bestens gedankt. Es handelte sich dabei durchwegs um gesunde Leute mit normaler Darmtätigkeit; denn auch Kroeber hatte festgestellt, dass solche Versuche nur als voll zu bewerten sind, wenn sie am gesunden Menschen ausgeführt werden, da Bettlägerige meist zur Obstipation neigen[32].

Die gewünschte Dosis wurde in Cachets oder Gelatinekapseln jeweilen am Abend vor dem Schlafengehen eingenommen und galt als wirksam, wenn am anderen Morgen die Entleerung eines gelbbraunen, breiigen Stuhles erfolgte. Die Einnahme der nächsten Dosis erfolgte immer erst nach einigen Tagen Ruhe, um die Verdauungsorgane nicht unnötig zu belasten, und um einer eventuellen Gewöhnung vorzubeugen.

Auch hier wurde zuerst die zur Herstellung der Extrakte verwendete Droge auf ihre Wirksamkeit untersucht.

Tabelle 9 **Wirksamkeit der Ausgangsdroge am Menschen**

Person	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	—	+	+	+
2	—	—	—	—	—	+
3	—	—	+	+	+	+
4	—	—	—	+	+	+
5	—	—	—	+	+	+
6	—	—	+	+	+	+

Die wirksame Dosis liegt bei 2,0 g, da die Person Nr. 2 auch bei den anderen Versuchen erst bei einer durchwegs höheren Dosierung reagierte und infolgedessen bei der Festsetzung der kleinstwirksamen Dosis nicht berücksichtigt wurde.

[32] Kroeber: Heil- und Gewürzpfl. VI, S. 41 (1923/24).

Die Wirkung war prompt, doch war sie in allen Fällen mit sehr starken, krampfartigen Leibschmerzen verbunden. Die Ansicht von Poulsson, der von gar keinen oder nur leichten Kolikschmerzen spricht[33], kann daher nicht geteilt werden. Es ist daher begreiflich, dass in praxi die Tabletten des Handels, die aus Rhiz. Rhei pulvis bestehen, beim Publikum nicht sehr beliebt sind und durch Präparate, die Rheumextrakte enthalten oder gar andere Abführmittel, die diese unangenehmen Begleiterscheinungen weniger aufweisen, verdrängt werden.

Tabelle 10 **Wirksamkeit des Trockenextraktes A am Menschen**

Person	0,3 g	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g	0,8 g
1						
2						
3						
4						
5						
6						

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich eine solche von 0,5 g.

Tabelle 11 **Wirksamkeit des Trockenextraktes B am Menschen**

Person	0,3 g	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g	0,8 g
1						
2						
3						
4						
5						
6						

Als kleinste sicher wirksame Dosis ergibt sich eine solche von 0,5—0,6 g.

[33] Poulsson: Lehrb. d. Pharmakologie 1937, S. 325.

Tabelle 12 **Wirksamkeit des Trockenextraktes C am Menschen**

Person	0,3 g	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g	0,8 g
1	—	+	+	+	+	+
2	—	—	—	—	—	+
3	—	+	+	+	+	+
4	—	—	+	+	+	+
5	—	—	+	+	+	+
6	—	—	—	+	+	+

Als kleinste sicher wirksame Dosis erweist sich hier eine solche von 0,5 g.

Die kleinste wirksame Dosis bei allen drei Trockenextrakten kann hiermit auf 0,5 g festgesetzt werden.

Tabelle 13 **Wirksamkeit des Fluidextraktes A am Menschen**

Person	0,3 g	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	+	+	+	+	+
2	—	—	—	+	+	+	+
3	—	+	+	+	+	+	+
4	—	—	+	+	+	+	+
5	—	—	+	+	+	+	+
6	—	—	+	+	+	+	+

Als kleinste wirksame Dosis ergibt sich eine solche von 1,0 g.

Tabelle 14 **Wirksamkeit des Fluidextraktes B am Menschen**

Person	0,3 g	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g
1	—	—	+	+	+
2	—	—	—	+	+
3	—	+	+	+	+
4	—	+	+	+	+
5	—	—	+	—	+
6	—	+	+	+	+

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich eine solche von 1,0 g.

Tabelle 15 **Wirksamkeit des Fluidextraktes C am Menschen**

Person	0,3 g	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g
1	—	+	+	+	+
2	—	—	—	+	+
3	+	+	+	+	+
4	—	—	+	+	+
5	—	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich eine solche von 0,5—1,0 g.

Die kleinste wirksame Dosis der Fluidextrakte kann somit auf durchschnittlich 1,0 g festgesetzt werden, währenddem sie bei den Trockenextrakten bei ca. 0,5 g lag. Das drastische Schmerzgefühl bis zur Wirkung war zwar wie beim Drogenpulver immer noch vorhanden, wenn auch in viel weniger starkem Masse als bei diesem.

Tabelle 16 **Zusammenstellung der kleinsten am Menschen wirksamen Dosen der Extrakte in bezug auf die Ausgangsdroge**

Name des Extraktes	Extraktausbeute in bezug auf die Droge in %	Kleinste gefundene, am Menschen wirksame Dosis der Ausgangsdroge in g	Kleinste gefundene, am Menschen wirksame Dosis des Extraktes in g	Kleinste berechnete, am Menschen wirksame Dosis des Extraktes in g *	Scheinbare Ausbeute an wirksamer Substanz in % *
Trockenextrakt A	33,82	2,0 (0,02)**	0,5 (0,005)	0,676 (0,0068)	135,2 (136)
Trockenextrakt B	37,35	2,0 (0,02)	0,55 (0,005)	0,747 (0,0075)	135,8 (150)
Trockenextrakt C	40,65	2,0 (0,02)	0,5 (0,006)	0,813 (0,0081)	162,6 (135)
Fluidextrakt A		2,0 (0,02)	1,0 (0,01)	1,931 (0,019)	193,1 (190)
Fluidextrakt B		2,0 (0,02)	1,0 (0,01)	2,134 (0,021)	213,4 (210)
Fluidextrakt C		2,0 (0,02)	1,0 (0,02)	2,322 (0,023)	232,2 (105)

* Berechnungen siehe Fussnoten zu Tabelle 8 (Seite 24).

** Die eingeklammerten Werte stellen die entsprechenden Dosen für die Maus dar (siehe Tabelle 8 auf Seite 24)

Aus den Tabellen 8 und 16 geht folgendes hervor: Die Wirksamkeit der verschiedenen Präparate an der Maus und am Menschen steht in keinem Verhältnis zu deren entsprechendem Körpergewicht. Wenn letzteres der Fall wäre, müsste bei einem Menschen von durchschnittlich 60 kg Körpergewicht ungefähr die 3000fache Mausdosis für die Erzielung einer Wirkung verwendet werden. Wie die Versuche zeigten, genügt aber schon die 100fache Dosis, so dass man daraus den Schluss ziehen muss, dass der menschliche Organismus gegenüber der abführenden Wirkung von Rhabarberpräparaten ungefähr 30mal empfindlicher ist als derjenige der Maus.

Weiter entnehmen wir den Tabellen folgendes: Aus der Kolonne betreffend die Ausbeute an wirksamer Substanz bei den einzelnen Präparaten ergibt sich prinzipiell bei allen ungefähr dasselbe Bild, nämlich, dass diese Ausbeuten scheinbar überall höher als 100 % sind. Dies ist selbstverständlich an und für sich ein Ding der Unmöglichkeit und kann nur darauf zurückgeführt werden, dass bei der Verwendung des Drogenpulvers die Wirkstoffe im Organismus nur unvollständig extrahiert werden und somit auch nicht ihre volle Wirksamkeit entfalten können. Dafür spricht auch die ziemlich gute Uebereinstimmung der Ausbeuten an wirksamer Substanz, sowohl beim Versuche am Menschen wie auch bei demjenigen an der Maus, indem sich diese Ausbeuten bei allen Extrakten, mit Ausnahme des Fluidextraktes C, so ziemlich in der gleichen Grössenordnung bewegen.

Weiter darf man auch den Schluss ziehen, dass die frischen Fluidextrakte effektiv etwas besser wirksam sind als die entsprechende Menge Trockenextrakt, dass sie also das rationellste Rheumpräparat verkörpern. Mit anderen Worten, dass eine Wirkungssteigerung von der Droge über das Trockenextrakt zum frischen Fluidextrakt zu konstatieren ist. Greifen wir als Beispiel das Extrakt A heraus. Dort beträgt die kleinste wirksame Dosis beim Menschen 0,5 g. Das entsprechende Fluidextrakt A enthält effektiv 35 % Trockenextrakt, folglich müsste die kleinste wirksame Dosis des Fluidextraktes A theoretisch 1,42 g betragen. In Tat und Wahrheit werden aber nur 1,0 g zur Erzielung einer abführenden Wirkung benötigt. Dieses Bild wiederholt sich in ganz analoger Weise bei den Versuchen sowohl am Menschen als auch bei der Maus bei allen Extrakten, wenn wir vom Fluidextrakt C absehen, das

wenigstens auf die Mäuse schlechter wirkt als das Trockenextrakt C. Ueber die Gründe der allgemein besseren Wirkung der Fluidextrakte kann keine sichere Erklärung abgegeben werden, und man ist auf Vermutungen angewiesen. Möglicherweise wird auch hier das Trockenextrakt im Magen-Darm-Kanal nicht vollständig aufgelöst.

Ein Einfluss der Stabilisation der Droge vor der Herstellung der Extrakte lässt sich in bezug auf die Wirksamkeit der letzteren nicht nachweisen, indem sowohl bei den stabilisierten Extrakten A und C als auch bei dem nichtstabilisierten Extrakt B speziell beim Menschen, absolut gesprochen, kein fühlbarer Unterschied in der kleinsten wirksamen Dosis zu beobachten ist.

3. Einfluss der Aufbewahrung auf die Wirksamkeit von Droge, Trocken- und Fluidextrakten

In der Einleitung ist auseinandergesetzt worden, dass im Rhabarber und dessen Präparaten mit der Zeit eine Zersetzung stattfindet, indem der Anthrachinongehalt steigt, die abführende Wirkung dagegen abnimmt. In dieser Arbeit wurde ausschliesslich die durch den physiologischen Versuch feststellbare Seite einer inneren Veränderung des Rhizoms und seiner Extrakte berücksichtigt. Der chemische Teil lag nicht im Rahmen dieser Untersuchungen.

a) Droge

Ein Muster derselben Droge, die auch schon zur Herstellung der Extrakte gedient hatte, wurde pulverisiert in einem braunen Glase mit Korkstopfen an einem dunkeln Orte aufbewahrt. Das Rhizom hatte sich im Laufe der Zeit nur sehr wenig verändert, indem das Drogenpulver nach 4 Monaten und nach 1 Jahr, obschon es nicht stabilisiert worden war, noch die gleiche Wirksamkeit aufwies. Nach zweijähriger Lagerung zeigte sich insofern ein ganz geringer Verlust an Wirksamkeit, dass bis zum gewünschten Effekt etwas grössere Dosen eingenommen werden mussten.

Aus verschiedenen Gründen war es nicht mehr möglich, die Versuche an weissen Mäusen fortzusetzen. Auch schien mir die Prüfung am Menschen wertvoller, da ausser einer genaueren Kontrolle Nebenerscheinungen, wie krampfartige Schmerzen usw., festgestellt werden können.

Tabelle 17 **Wirkung des Drogenpulvers am Menschen nach 2 Jahren**

Person	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	—	+	—
2	—	—	—	—	—
3	—	—	+	+	+
4	—	—	—	+	+
5	—	—	—	+	+
6	—	—	—	+	+

Die sicher wirksame kleinste Dosis liegt somit bei 2,5 g. Wenn man dies mit den in Tabelle 9 auf Seite 25 wiedergegebenen Werten vergleicht, zeigt sich, dass die kleinste, am Menschen wirksame Dosis nach 2 Jahren von 2,0 g auf 2,5 g gestiegen ist, was einem Wirkungsverlust von ca. 25 % gleichkommt.

b) Trockenextrakte

Die Trockenextrakte wurden gleich nach der Fertigstellung in braunen Kalkstopfengläsern an einem dunkeln Orte aufbewahrt. Die auf diese Weise gelagerten Trockenextrakte A, B und C zeigten nach 4 Monaten und sogar noch nach einem Jahr die gleiche physiologische Wirkung. Nach 2 Jahren jedoch war wie bei dem Rhizom eine Abnahme der Wirksamkeit eingetreten, was sich an den grösseren Dosen äusserte, die zur Erzielung einer Wirkung eingenommen werden mussten. Es ergab sich hier folgendes Bild:

Tabelle 18 **Wirksamkeit des Trockenextraktes A am Menschen nach 2 Jahren**

Person	0,3 g	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g
1	—	—	+	+	+
2	—	—	—	+	+
3	—	+	+	+	+
4	—	—	—	+	+
5	—	—	+	+	+
6	—	—	+	+	+

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich hier eine solche von 0,5 g.

Tabelle 19 Wirksamkeit des Trockenextraktes B am Menschen nach 2 Jahren

Person	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g	0,8 g
1	—	—	—	+	+
2	—	—	—	+	+
3	—	—	+	+	+
4	—	—	—	+	+
5	—	—	—	+	+
6	—	—	+	+	+

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich hier eine solche von 0,7 g.

Tabelle 20 Wirksamkeit des Trockenextraktes C am Menschen nach 2 Jahren

Person	0,3 g	0,4 g	0,5 g	0,6 g	0,7 g
1	—	+	+	+	+
2	—	—	—	+	+
3	—	—	+	+	+
4	—	+	+	+	+
5	—	+	+	+	+
6	—	+	—	+	+

Als kleinste wirksame Dosis erweist sich hier eine solche von 0,5 g.

Wenn diese Daten den Tabellen 10, 11 und 12 auf Seiten 26 und 27 gegenübergestellt werden, zeigt sich sofort, dass die kleinstwirksamen Dosen für Extrakt A und Extrakt C nach 2 Jahren dieselben geblieben sind, während bei Extrakt B ein leichter Anstieg zu bemerken ist. Das heisst mit anderen Worten, dass die stabilisierten Extrakte A und C in der Wirkung gleich geblieben sind, während das unstabilisierte Extrakt B eine ca. 20prozentige Abnahme der Wirkung aufweist. Diese Abnahme deckt sich recht gut mit dem entsprechenden Wirkungsverlust des Drogenpulvers, der nach 2 Jahren 25 % betrug. Aeusserlich war weder dem Drogenpulver noch den Trockenextrakten irgendeine Veränderung anzusehen.

c) Fluidextrakte

Was nun die Fluidextrakte betrifft, galt die vorliegende Arbeit hauptsächlich dem Studium der Haltbarkeit derselben. Die drei Fluidextrakte A, B und C wurden nach verschiedenen Gesichtspunkten aufbewahrt.

Schon in der Einleitung war von der Zersetzlichkeit des Rhabarber-Fluidextraktes die Rede, die in der Pharmakopoe-Forderung: «Aufbewahrung nicht länger als 3 Monate[34]» ihren sinnfälligen Ausdruck gefunden hat.

Das Naheliegendste war eine Veränderung der Inhaltsstoffe durch Licht, Luftsauerstoff und Glasalkali. Um diese Möglichkeiten zu prüfen, wurden die Fluidextrakte A, B und C sofort nach ihrer Fertigstellung in je 8 Teile zu 100 g aufgeteilt. In der untenstehenden Uebersicht ist zusammengestellt, wie experimentell die einzelnen Einflüsse einwirken gelassen oder ferngehalten wurden.

Tabelle 21

Aufbewahrung von je 100 g Fluidextrakt bei Einwirkung von	Experimentelle Bedingungen
1. Licht, Sauerstoff, Alkali .	Weisse Weithalsflasche von 200 ccm Inhalt mit Korkverschluss. Sie wurde von Zeit zu Zeit geöffnet und geschüttelt.
2. Licht, Sauerstoff	Weisser, alkalifreier Weithalskolben aus Jenaer Glas von 200 ccm Inhalt. Er wurde von Zeit zu Zeit geöffnet und geschüttelt.
3. Licht, Alkali	Weisse, vollständig gefüllte Flasche von 75 ccm Inhalt* mit eingeschliffenem Glasstopfen.
4. Licht	Weisser, vollständig gefüllter, alkalifreier Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas von 75 ccm Inhalt* mit eingeschliffenem Glasstopfen.
5. Sauerstoff, Alkali	Braune Weithalsflasche von 200 ccm Inhalt mit Korkverschluss. Sie wurde von Zeit zu Zeit geöffnet und geschüttelt.
6. Sauerstoff	Brauner, alkalifreier Weithalskolben aus Jenaer Glas von 200 ccm Inhalt mit Korkverschluss. Er wurde von Zeit zu Zeit geöffnet und geschüttelt.
7. Alkali	Braune, vollständig gefüllte Flasche von 75 ccm Inhalt* mit eingeschliffenem Glasstopfen.
8. 0	Braune, vollständig gefüllte, alkalifreie Glasstopfenflasche aus Jenaer Glas von 75 ccm Inhalt*.

* 100 g Fluidextrakt füllten eine 75-ccm-Flasche vollständig.

[34] Ph. H. V, S. 356.

Auf die Verwendung eines Kalziumchlorid-Rohres zwecks ständigen Luftzutrittes bei 1, 2, 5 und 6 wurde bewusst verzichtet, da dieses System ein zu starkes Eindunsten der ohnehin schon dicken Extrakte zur Folge gehabt hätte. Die unter Lichtabschluss gestellten Extrakte wurden ausser in braunem Glase noch in einem verschlossenen Schranke aufbewahrt. Die Flaschen 8 wurden unter idealen Umständen aufbewahrt, indem alle störenden Einflüsse ferngehalten wurden.

Die flüssigen Extrakte A, B und C, die nach ihrer Herstellung klar und von brauner Farbe waren, zeigten schon nach kurzer Zeit eine zunehmende Trübung. Nach 4 Monaten war diese so stark geworden, dass sie sich als hellgraubraunes Sediment am Boden der Gefässe ablagerte.

Ohne vorläufig auf diese Erscheinung Rücksicht zu nehmen, wurden nach 4 Monaten die Versuche auf Wirksamkeit angesetzt. Wie schon erwähnt, konnten auch hier nur Menschen als Versuchsobjekte herangezogen werden. Die Extraktlösungen wurden vor Verwendung längere Zeit geschüttelt, um das Sediment in die Prüfung mit einbeziehen zu können. Die gewünschten Dosen wurden wegen des überaus schlechten Geschmackes dieser Extrakte auch hier in Gelatinekapseln verabfolgt.

Tabelle 22

Wirksamkeit des Fluidextraktes A am Menschen nach 4 Monaten

Person	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	—	+	+	+
2	—	—	—	—	+	+
3	-	—	+	+	+	+
4	—	—	—	+	+	+
5	—	—	-	+	+	+
6	—	—	+	+	+	+

Die wirksame Dosis betrug bei diesem Fluidextrakt 2,0 g.

Tabelle 23

Wirksamkeit des Fluidextraktes B am Menschen nach 4 Monaten

Person	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	—	±	±	+
2	—	—	—	—	±	±
3	—	—	+	±	±	±
4	—	—	—	—	+	±
5	—	—	—	—	±	±
6	—	—	—	±	±	+

Die wirksame Dosis betrug bei diesem Extrakt 2,5 g.

Tabelle 24

Wirksamkeit des Fluidextraktes C am Menschen nach 4 Monaten

Person	0,5 g	1,0 g	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g
1	—	—	—	+	±	+
2	—	—	—	—	±	+
3		—	±	±	±	+
4	—	—	—	±	±	+
5	—	—		±	—	+
6	—	—	—	±	±	±

Die wirksame Dosis betrug in diesem Falle 2,0 g.

Die kleinsten wirksamen Dosen liegen, wie aus obigen drei Tabellen ersichtlich ist, bei Gaben von 2,0 bis 2,5 g Fluidextrakt. Dies bedeutet gegenüber den frischen Fluidextrakten eine wesentliche Abnahme der Wirksamkeit, indem bei letzteren nur 1,0 g zur Erzielung einer Wirkung nötig waren (siehe Tabelle 16 auf Seite 28). Weiter zeigt es sich jetzt schon, dass die Fluidextrakte wesentlich weniger haltbar sein müssen als das Drogenpulver oder die Trockenextrakte, da bei den letzteren beiden innerhalb von 4 Monaten kein Wirkungsabfall zu verzeichnen war.

Die Sedimentbildung war nicht in allen Proben gleich stark. Um quantitative Unterschiede feststellen zu können, wurde versucht, Sediment und Lösung voneinander zu trennen. Infolge der grossen Viskosität der Extraktlösungen war jedoch die Ausführung dieses Vorhabens ziemlich schwierig.

Durchsaugen durch einen genau gewogenen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrockneten Glasfiltertiegel 1 G_3 Schott schlug fehl, da der Filtertiegel binnen kurzem keinen Tropfen mehr durchliess, trotzdem eine starke Wasserstrahlpumpe zum Saugen verwendet wurde.

Ein Versuch mit einem Glasfiltertiegel von grösserer Porenweite, nämlich 1 G_2, scheiterte aus demselben Grunde. Das Wenige der durchgelaufenen Lösungen war vollständig klar, aber nach ein- bis zweistündigem Stehen begann darin wieder eine Sedimentbildung aufzutreten. Die Einwirkung des Luftsauerstoffs kann hier kaum eine Rolle spielen, da das flüssige, filtrierte Extrakt sich in der Saugflasche in einem vollständigen Vakuum befand. Die Trübung nahm trotz Luftleere zu und war nach zwei Tagen zu einer starken Ablagerung geworden. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass beim Absaugen ein Teil des Menstruums, hauptsächlich der Alkohol, verdunstet.

Da diese beiden Methoden scheiterten, wurde versucht, das Sediment durch Abnutschen auf Spezialfiltrierpapier Schleicher & Schüll für Sirupe zu fassen, was aber ebenfalls misslang, da auch dieses Papier nach kurzer Zeit undurchlässig wurde.

Nun wurde versucht, durch Zentrifugieren zum Ziele zu gelangen. Es wurden eine elektrische Zentrifuge und kleine konische Zentrifugiergläser verwendet, die eine Kalibrierung von 0,05 ccm aufwiesen. Um einigermassen genaue quantitative Bestimmungen ausführen zu können, wurde das zu zentrifugierende Extrakt während einer Stunde in der Schüttelmaschine gut gemischt. Dann wurden in zwei der obigen Röhrchen sofort je 10 ccm abpipettiert. Zur Kontrolle wurden immer vom gleichen Extrakt zwei Proben genommen. Das Ausschleudern selbst erfolgte in allen Fällen während 15 Minuten bei einer Tourenzahl von 3500 Umdrehungen pro Minute. Abgelesen wurde jeweilen sofort nach Beendigung des Zentrifugierens. Die Resultate sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 25 **Menge des Sedimentes von 10 ccm Fluidextrakt in ccm ausgedrückt, bei verschiedener Aufbewahrungsart (siehe Tabelle 21 auf Seite 33)**

	Aufbewahrungsart							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Fluidextrakt A	0,04	0,04	0,05	0,03	0,04	0,03	0,05	0,02
Fluidextrakt B	0,09	0,13	0,08	0,07	0,09	0,06	0,09	0,07
Fluidextrakt C	0,08	0,07	0,08	0,05	0,08	0,04	0,05	0,08

Aus dieser Tabelle ist nun folgendes ersichtlich:

Die mit verdünntem Alkohol stabilisierte Droge liefert ein Fluidextrakt A, das bei der Aufbewahrung am wenigsten Sediment bildet, während das Fluidextrakt B aus der nichtstabilisierten Droge den reichlichsten Niederschlag aufweist und Fluidextrakt C aus der mit konzentriertem Weingeist stabilisierten Droge in bezug auf Sedimentierung zwischen die Fluidextrakte A und B zu liegen kommt.

Was nun die übrigen Einflüsse betrifft, wie Glasalkali, Luftsauerstoff und Licht, ergibt sich nun aus obenstehender Tabelle folgendes:

Sämtliche Fluidextrakte, die unter Einfluss des Glasalkalis standen, weisen durchwegs die grösste Sedimentbildung auf, wobei allerdings beizufügen ist, dass die absoluten Mengendifferenzen des Sedimentes gegenüber den anderen Aufbewahrungsarten nicht sehr gross sind. Immerhin lässt sich unverkennbar ein Einfluss des Glasalkalis nachweisen. Speziell bei der Aufbewahrungsart 7, wo das Glasalkali allein einwirkte, zeigt sich gegenüber der idealen Aufbewahrungsart 8 mit Ausnahme des Fluidextraktes C eine deutliche Steigerung der Sedimentbildung.

Was nun den Einfluss des Luftsauerstoffs betrifft (Aufbewahrungsart 6), zeigt es sich, dass dieser die Sedimentbildung nicht oder nur in ganz geringem Masse erhöht, indem bei Fluidextrakt A dieses nur um 0,01 ccm zunahm, während bei Fluidextrakt B und C im Gegenteil die Sedimentmenge gegenüber der idealen Aufbewahrungsart 8 geringer war.

Dasselbe gilt auch von der Lichteinwirkung allein (siehe Aufbewahrungsart 4).

Die kombinierten Einwirkungen von Luft, Licht und Glasalkali ergeben keine deutlichen Unterschiede in der Sedimentbildung, so dass man annehmen muss, dass Licht und Sauerstoff diesbezüglich

keine deutlichen Einflüsse besitzen und dass als sedimentbildendes Agens praktisch nur das Glasalkali übrigbleibt.

Ein Zusammenhang zwischen Sedimentbildung und Wirksamkeitsverlust lässt sich hingegen deutlich erkennen, indem bei Fluidextrakt B nach 4 Monaten beide am grössten sind.

Es wurde nun versucht, die Sedimente möglichst vollständig vom anhaftenden Fluidextrakt zu befreien. Zu diesem Zwecke wurde nach dem Abzentrifugieren die über dem Sediment stehende klare Lösung vorsichtig abgegossen und das Sediment in destilliertem Wasser aufgewirbelt, nachdem in einem Vorversuche festgestellt worden war, dass die Sedimente an letzteres nichts abgeben. Dann wurde erneut zentrifugiert, das Waschwasser abgegossen und diese Prozedur mehrmals wiederholt, bis das Waschwasser klar und farblos war. Die ausgewaschenen Sedimente wurden dann im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Auf 100 g Fluidextrakt erhielt man ca. 0,1 bis 0,3 g Sediment in Form eines hellgrünlichen Pulvers von säuerlichem Geschmack. Physiologisch waren diese Sedimente, auch in Dosen von 0,5 g, völlig unwirksam.

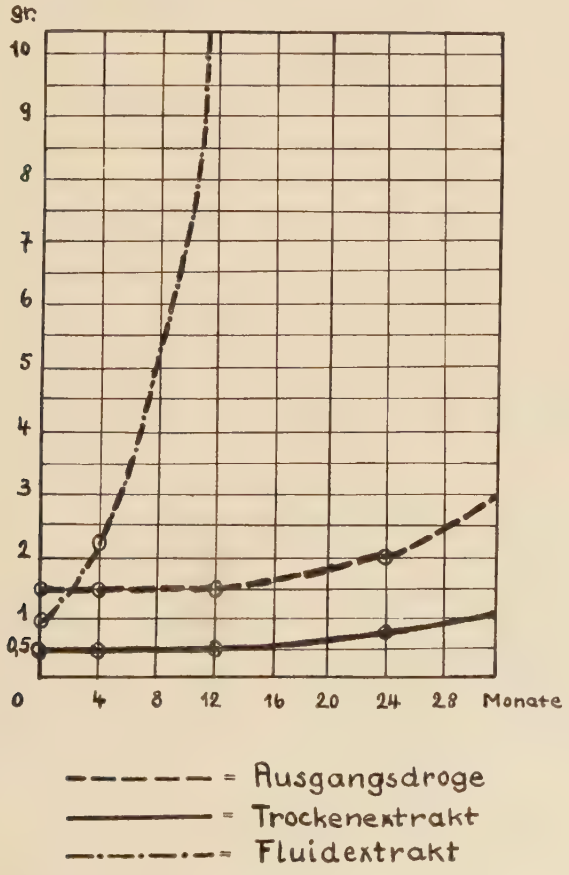
Die so von den Sedimenten befreiten Fluidextrakte wurden in die ursprünglichen Gläser und Flaschen zurückgebracht. Zur Vermeidung einer «Impfung» für neue Niederschlagsbildung waren dieselben unterdessen gründlich gereinigt und getrocknet worden. Die Extrakte wurden nun wieder genau gleich wie das erstemal stehengelassen, wobei diejenigen, bei denen die Lufteinwirkung geprüft werden sollte, von Zeit zu Zeit geöffnet und geschüttelt wurden.

Nach Verlauf von weiteren 12 Monaten wurden sie einer erneuten Prüfung unterzogen. Bei allen Proben war wieder neue Sedimentbildung eingetreten. Am stärksten war sie in den Extrakten B aus unstabilisierter Droge, weniger stark in C und ganz unbedeutend in den acht Flaschen, die Extrakt A enthielten, welches aus einer mit verdünntem Weingeist stabilisierten Droge hergestellt worden war.

Die Proben 5, 6, 7 und 8, die alle unter Lichtschutz aufbewahrt worden waren, wurden wiederum einer physiologischen Prüfung unterworfen. Diese ergab ein vollständig negatives Resultat, indem sogar Dosen von 10,0 g an sechs Personen gar keine abführende Wirkung mehr erzeugten, während vorher 1,0 g der frisch hergestellten und 2,0 bis 2,5 g der 4 Monate lang gelagerten Fluidextrakte

noch wirksam waren. Es war zu erwarten, dass die Wirksamkeit in flüssigen Extrakten im Verlaufe von 16 Monaten stärker abnehmen würde als beim Pulver und den entsprechenden Trockenextrakten, indem bei ersteren schliesslich eine Lösung vorliegt, in welcher Umsetzungen viel leichter möglich sind. Diese ausserordentliche Wirkungseinbusse war aber doch sehr überraschend.

Das Verhältnis der Wirkungsabnahme von Droge, Trocken- und Fluidextrakt zueinander lässt sich am besten graphisch darstellen, indem auf der Abszisse die Zeit der Lagerung und auf der Ordinate die kleinsten noch wirksamen Dosen festgehalten werden:



Damit ist ein deutlicher Beweis erbracht, dass die Rhabarberpräparate in Form ihres flüssigen Extraktes am wenigsten gut haltbar sind.

Diese unter verschiedenen Bedingungen aufbewahrten acht Fluidextrakte wurden nach weiteren 12 Monaten wie das erstemal (siehe Seite 38) ausgeschleudert. Die Sedimente wurden nach dem Auswaschen mit kaltem destilliertem Wasser und Trocknen im Schwefelsäure-Exsikkator mit den entsprechenden Niederschlägen vereinigt, die beim ersten Zentrifugieren nach 4 Monaten angefallen waren.

Ball und Lee[35] hatten schon ausgedehnte Studien über die Ausflockung im Fluidextrakt einer anderen Glykosiddroge, nämlich in Extr. Uvae ursi fluidum, gemacht. Zwar handelt es sich beim Hauptglykosid von Arctostaphylos Uva ursi um eine Zuckerverbindung ganz anderer Art als beim Rhabarber, trotzdem sind die Feststellungen jener Autoren für die hier vorliegende Arbeit von einigem Interesse:

In Extr. Uvae ursi bewirkt eine vorangehende Stabilisation der Droge, dass sich weniger und nur amorphe Niederschläge bilden. Die Autoren schlossen daraus, dass durch das Erhitzen der Droge die für die Sedimentbildung notwendigen Fermente zerstört werden. Die kristallinische Ausflockung wurde von ihnen als Ellagsäure identifiziert, die im Fluidextrakt dieser Gerbstoff enthaltenden Droge durch Hydrolyse von Ellagengerbstoffen mit Hilfe von Fermenten entstanden war.

Da der Rhabarber, wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, auch zu den Drogen zu zählen ist, die reichlich Gerbstoff enthalten, lag die Frage auf der Hand, ob es sich bei dem im Rhabarber-Fluidextrakt entstandenen Sediment nicht auch um Ellagsäure handeln könnte. Dazu berechtigte uns die hellgräuliche bis grünliche Farbe und die kristalline Struktur dieses Niederschlages. Für Ellagsäure sprachen auch die Schwerlöslichkeit sowie der adstringierende Geschmack. Die Griesheimersche Reaktion[36] auf Ellagsäure verlief aber negativ. Zu diesem Zwecke wurde die zu untersuchende Sub-

---

[35] Ball und Lee: Journ. Americ. pharm. assoc. **26,** S. 698ff. (1937).
[36] Mühlemann: Pharm. Act. Helv. **13,** S. 293 (1938).

stanz trocken mit nitrithaltiger Salpetersäure übergossen und mit Wasser stark verdünnt. Wenn Ellagsäure vorhanden ist, würde dabei die Lösung eine himbeerrote Farbe annehmen. Da dies nicht der Fall war, kann der Niederschlag nicht aus Ellagsäure bestehen.

Die Veraschung des Sedimentes auf einer Porzellanscherbe zeigte anfänglich ein Verkohlen, und es hinterblieb ein weisser bis hellgrauer Rückstand, der am Platindraht die für Kalzium typische Flammenfärbung gab. Der Veraschungsüberrest wurde daher mit einem Tropfen verdünnter Essigsäure aufgenommen. Mit ein paar Körnchen Jodsäure entstanden bald die für Kalzium typischen, rhombischen, oft zu Sternen vereinigten Kristalle von Kalziumjodat[37].

Die nunmehr naheliegende Vermutung, es handle sich bei den fraglichen Sedimenten im wesentlichen um Kalziumoxalat, wurde auf folgende Weise bestätigt: Eine kleine Menge des Niederschlages wurde in verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung mit Aether dreimal ausgeschüttelt. Die auf einem Uhrglas eingedampfte, wässerige Schicht ergab eine zerfliessliche Masse, worin Kalzium nachgewiesen werden konnte. Die ätherische Schicht hinterliess nach dem Eindampfen einen weissen Rückstand. Ein paar Tropfen wässeriger Lösung desselben wurden mit in konzentrierter Schwefelsäure gelöstem Resorzin unterschichtet. Es bildete sich an der Berührungsfläche eine schwache, grüne Zone, die bald in blaugrün überging. Die folgende typische Reaktion auf Oxalsäure fiel ebenfalls positiv aus:

«5 ccm Lösung und 5 ccm konzentrierte Salzsäure wurden gemischt. Zu dieser Lösung wurde etwas Zinkblech gegeben und eine Minute lang gekocht. Dann wurde während drei bis fünf Minuten stehengelassen, vom Zink abgegossen und 5 Tropfen einer 1prozentigen Phenylhydrazinlösung zugegeben. Hierauf wurde wieder bis zum Sieden erhitzt und sofort unter fliessendem Wasser abgekühlt. Nun wurden 5 Tropfen einer 5prozentigen Lösung Kaliumferricyanid zugefügt. Bei Anwesenheit von Oxalsäure würde nun beim Schütteln eine Rotfärbung entstehen.» Diese Rotfärbung trat, wenn auch nur schwach, ein.

---

[37] Rosenthaler: Qual. pharm. Analyse 1922, S. 7.

Mit diesen angeführten Reaktionen ist eindeutig bewiesen, dass es sich bei den in allen Fluidextrakten gebildeten Sedimenten neben geringen organischen, nicht definierbaren Verunreinigungen hauptsächlich um Kalziumoxalat handelt.

4. Ursachen der Wirkungseinbusse bei den Fluidextrakten

Es wirft sich nun die Frage auf, worauf die vollständige Wirkungseinbusse der Fluidextrakte zurückzuführen ist, während, wie schon im vorhergehenden dargelegt wurde, die Droge und die Trockenextrakte eine unvergleichlich bessere Haltbarkeit aufweisen.

Die Ursachen, die die Abnahme der Wirksamkeit der flüssigen Extrakte bedingen, müssen wohl auf biologischem, physikalischem und chemischem Gebiete gesucht werden.

a) Biologische Einflüsse

Einwirkung von Bakterien und Pilzen auf die Haltbarkeit von flüssigen Arzneiformen ist häufig. So schrieb Astruc in seinem Werk über galenische Pharmazie[38]: «Les extraits acides se recouvrent de végétations, de moisissures; les extraits neutres laissent développer des bactéries.» Bei stark alkoholhaltigen Extrakten, wie gerade z. B. bei Extr. Rhei fluidum, ist wohl die Gefahr eines Wachstums von Pilzen oder Bakterien weniger gross, doch wurde auch diese Möglichkeit der Vollständigkeit halber hier berücksichtigt.

Man prüfte auf vorhandene Keime durch Herstellen von Bouillon-Gelatinekulturen in Petrischalen. Zu diesem Zwecke wurde eine Nährbouillon nach Stich[39] folgendermassen hergestellt:

Die Mischung von	Natrium chloratum	0,5 g
	Pepton Witte	1,0 g
	Extr. carnis Liebig	1,0 g
	Aqua destillata	100,0 g

[38] Astruc: Traité de pharmacie galénique I, S. 321.
[39] Stich: Bakteriologie u. Sterilisation, 4. Aufl., S. 34.

wurde eine halbe Stunde im Dampfbad gekocht und erkalten gelassen. Nach Filtration wurden zu 90,0 g dieser Lösung 10,0 g weisse, geschnittene Gelatine beigefügt. Nach dem Quellen und Erweichen wurde 20 Minuten auf dem Dampfbad gekocht. Die heisse Lösung wurde hierauf mit Natronlauge neutralisiert, eine Viertelstunde auf dem Dampfbad erhitzt und wie vordem erneut neutralisiert. Dann wurde auf 1 Liter 1,5 g kristallisierte Soda (nicht verwitterte!) zugefügt, auf dem Dampfbad ½ bis ¾ Stunden gekocht und durch Papier filtriert. Nun wurde die filtrierte Lösung zu je 10 ccm in sterilisierte Reagenzgläser, die mit einem Gaze-Wattebausch verschlossen wurden, abgefüllt und im freiströmenden Wasserdampf sterilisiert.

Hier sei bemerkt, dass sämtliche verwendeten Glaswaren, wie Petrischalen, Erlenmeyerkolben usw., nach der Methode c) der Ph. H. V[40] sterilisiert wurden, d. h. durch trockenes Erhitzen im Trockenschrank bei 120 ° während 2 Stunden. Die Lösungen hingegen wurden nach f) (loc. cit.), nämlich durch Erhitzen im freiströmenden Wasserdampf von ca. 100 °, während 30 Minuten sterilisiert.

Um die Keimfreiheit der Nährgelatine zu prüfen, wurde der Inhalt von drei der obigen Röhrchen bei maximal 40 ° im Wasserbad verflüssigt, in vorher sterilisierte Petrischalen ausgegossen und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Auch nach 8 Tagen war in keiner der Schalen auch nur das geringste Wachstum wahrzunehmen. Für die eigentlichen Versuche wurde eine Anzahl steriler Petrischalen mit je 10 ccm der im Wasserbade verflüssigten Gelatinebouillon beschickt.

Unterdessen hatte man von jedem der drei Fluidextrakte A, B und C in sterilen Gefässen eine Verdünnung im Verhältnis 1:10 mit destilliertem, sterilisiertem Wasser hergestellt. Von diesen zehnfach verdünnten Fluidextrakten wurde je 1 ccm in eine der obigen Petrischalen gegeben, mit der noch flüssigen Gelatine durch vorsichtiges Bewegen gut vermischt und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Platten waren von sehr dunkler Farbe und, infolge Trübung des Extraktes nach dem Wasserzusatz, nicht ganz durchsichtig. Man stellte sich daher in gleicher Weise Platten her, die mit einer Extrakt-

[40] Ph. H. V, S. 7.

verdünnung im Verhältnis 1:100 beschickt waren. Diese Petrischalen waren ziemlich durchsichtig und hatten eine hellbraune Farbe, schienen also zur Feststellung von Pilzwachstum sehr geeignet.

Nach 8 Tagen war in den Platten nur ein sehr spärliches Auftreten von weissen, punktförmigen Kolonien festzustellen. Es wurde nun eine Anreicherung der Pilze versucht.

Je 10 ccm steriler Nährbouillon ohne Gelatine wurden mit je 1 ccm Fluidextrakt A, B und C versetzt und während 3 Tagen bei 37° bebrütet. Nach dieser Zeit hatte sich an den Wänden der Gläser eine dunkle, klebrige Masse, vermutlich Gerb- und Schleimstoffe, abgesetzt. Die Lösung selber war hellgelb und leicht trübe. Es wurden neue Proben angesetzt, die aber während 3 Tagen bei einer Temperatur von nur 20° aufbewahrt wurden. Diesmal unterblieb die Ausflockung.

Von diesen angereicherten Bouillonflüssigkeiten wurde nun je 1 ccm in die mit verflüssigter Nährgelatine beschickten Petrischalen gegeben, gut durchgemischt und 8 Tage lang zur Beobachtung beiseitegestellt. Nach dieser Zeit erschienen in den Platten Pilzkolonien in Form von weissen Pünktchen, die bald grösser wurden und im Innern eine grüne Färbung annahmen. Unter dem Mikroskop erwiesen sich die vorhandenen Keime als gewöhnliche Schimmelpilze (Mucor). Die Platten mit Extrakt A wiesen sehr wenig Schimmelbildung auf, etwas mehr war bei C zu finden, wogegen die Platten mit B-Extrakt bald von den graugrünen Myzelien ganz bedeckt waren.

Herr Prof. Hallauer, Direktor des hygienisch-bakteriologischen Institutes der Universität Bern, hatte sich in liebenswürdiger Weise bereit erklärt, von den fraglichen Extrakten genaue Analysen auf Keimgehalt vorzunehmen. Auch an dieser Stelle sei ihm für sein Entgegenkommen bestens gedankt. Aus dem Bericht des hygienisch-bakteriologischen Institutes entnehmen wir folgendes:

«... Eine geringe Menge von den Extrakten wurde auf folgende Nährböden überimpft: Blutagar und Maltoseagar in Petrischalen, Eier- und Leberbouillon. Ferner wurde eine ganz geringe Menge der Flüssigkeiten in einen Kolben mit ca. 100 ccm Bouillon übertragen; in diesem Nährboden findet eine mehr als 1000fache Verdünnung der Flüssigkeit statt, so dass eine Vermehrung der Keime im Nährboden auch dann eintreten kann, wenn die zu untersuchende Flüssigkeit entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt.

Die Flüssigkeiten B und C erwiesen sich als steril. Die mit der Flüssigkeit A beimpften Nährböden zeigten mit Ausnahme von einem Wachstum von grampositiven, sporen-

bildenden Stäbchen vom Typus der Mesentericusbazillen. Da die festen Nährböden nur wenige Kolonien aufwiesen, kann angenommen werden, dass die erwähnten Keime in ganz geringen Mengen in der Flüssigkeit A enthalten waren, und dass ihre Vermehrung in der Flüssigkeit A gar nicht oder nur in geringem Masse vor sich ging.

Zu den gezüchteten Keimen bemerken wir noch, dass sie zu den Saprophyten gehören, die in der freien Natur weit verbreitet sind.»

Die zu Anfang dieses Kapitels erwähnte Schimmelpilzbildung muss daher, nach den Feststellungen des obenerwähnten Institutes, durch Keime verursacht worden sein, die nachträglich, wohl infolge Oeffnens der Schalen durch Unbefugte, in die angelegten Kulturen gelangt waren. Dafür, dass sie sich im Augenblick der Beimpfung der Platten nicht in diesen befanden, spricht auch die Tatsache, dass sie erst nach längerem Stehen der Kulturen, nämlich nach 8 Tagen, auftraten. Die Extrakte B und C, in denen nach den Feststellungen des genannten Laboratoriums keine Keime anwesend waren, hatten sich aber genau gleich zersetzt wie Extrakt A, so dass anzunehmen ist, dass dieses Unwirksamwerden der Fluidextrakte nicht durch Pilze oder Bakterien, resp. deren Ausscheidungsprodukte, biologisch bedingt sein kann.

Eine andere Körpergruppe, die die Wirkungsabnahme des Rhabarber-Fluidextraktes beschleunigen könnte, wäre die der Fermente. Dass im Rhabarberrhizom Fermente vorhanden sind, steht fest. Vor allem wurde eine Oxydase festgestellt[41]. Wasicky spricht sogar von einer «Oxydase und einer Anthraglykoxydase[42]». Um die Wirkung dieser und eventuell noch anderer vorhandener Fermente lahmzulegen, wurde vor der Herstellung der Extrakte A und C die Droge, wie schon erwähnt, stabilisiert. Die Stabilisierung hatte effektiv einen Einfluss auf die Sedimentbildung in den Fluidextrakten (siehe Seite 37), indem die aus stabilisierter Droge hergestellten Fluidextrakte beim Lagern bedeutend weniger deponierten als dasjenige aus der unstabilisierten Droge. Dabei muss allerdings dahingestellt bleiben, ob die Sedimentbildung fermentativ bedingt ist oder ob nicht schon durch die reine Hitzeeinwirkung bei der Stabilisation die sedimentierenden Stoffe endgültig ausgeflockt wurden und somit überhaupt nicht mehr in das Extrakt gelangten.

---

[41] Tschirch und Eijken: Schw. Wochenschr. f. Pharm. Nr. 40 u. 41 (1904).
[42] Wasicky: Ber. der bot. Gesellsch. **33,** S. 37 (1915).

Auf die Haltbarkeit der Fluidextrakte hingegen hatte diese Stabilisierung sozusagen keinen Einfluss, denn sowohl die Fluidextrakte aus der stabilisierten Droge wie dasjenige aus der unstabilisierten verloren ihre Wirksamkeit vollständig innerhalb von 2 Jahren. Ein ganz geringer Unterschied lässt sich nach viermonatiger Lagerung zwar noch feststellen, doch ist dieser unbedeutend, und jedenfalls war es durch die Stabilisation nicht möglich, ein haltbares Fluidextrakt zu erzielen.

Es wirft sich nun die Frage auf, ob durch diese Stabilisationsmethoden wirklich alle Fermente erfasst wurden. Um diese Frage beantworten zu können, wurde nach einer qualitativen Nachweismethode gesucht, die uns erlaubt, das eine oder andere Ferment in der Droge oder in den Extrakten nachzuweisen. Die Katalase lässt sich nach Bullet[43] infolge ihrer spezifischen Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd ziemlich leicht erkennen. Da die Katalase eines der widerstandsfähigsten Fermente ist, ist zwar bei deren Nachweis nicht ersichtlich, ob andere Fermente in dem untersuchten Material enthalten sind oder nicht. Im Falle ihrer Abwesenheit darf jedoch angenommen werden, dass bei der Stabilisation auch die anderen Fermente unwirksam gemacht wurden. Wir beschränkten uns daher auf den Nachweis der Katalase in den Fluidextrakten.

Zu 2 ccm Fluidextrakt werden 2 ccm 3prozentiges Wasserstoffsuperoxyd zugegeben und sorgfältig durchgemischt. Der sofort entstehende Schaum oder sein Ausbleiben beweist die Gegenwart, resp. die Abwesenheit von Katalase. Aus der Schaumhöhe kann eine annähernd quantitative Schätzung vorgenommen werden.

Dabei ergab sich nun folgendes Bild: Das frisch hergestellte Fluidextrakt B wies die grösste Schaumhöhe auf, dann folgten Fluidextrakt C und A, welch letzteres mit Wasserstoffsuperoxyd nur noch sehr wenig Schaum entwickelte und daher höchstens noch Spuren von Katalase enthalten kann. Dieses Verhalten war mehr oder weniger vorauszusehen, denn Fluidextrakt B war nicht stabilisiert, Fluidextrakt C wurde mit konzentriertem Weingeist bei einer Temperatur

---

[43] Richter: Süddeutsche Ap. Ztg. **76** (1934), 293, 401. Cit. nach Bullet, Diss. Bern 1938.

von ca. 78 ° und Fluidextrakt A mit stark verdünntem Weingeist bei einer Temperatur von ca. 90 ° stabilisiert. Dazu kommt noch, dass bei Fluidextrakt C nicht nur die Temperatur allein, sondern auch die hydrolytische Wirkung des Wassers aus dem verdünnten Spiritus beteiligt waren.

Es zeigte sich, dass also die Stabilisation nicht eine vollständige war, indem alle Extrakte noch mehr oder weniger Katalase enthielten und somit auch noch die Anwesenheit anderer Fermente im Bereich des Möglichen lag. Das bewog uns, nachträglich noch ein weiteres Extrakt herzustellen, das nun absolut fermentfrei sein sollte. Es wird später noch auf dieses Extrakt zurückgekommen werden (siehe Seite 49).

b) Physikalische Einflüsse

Zu den physikalischen Ursachen, die auf die Zersetzung der flüssigen Rhabarberextrakte einen Einfluss haben können, sind Temperatur und Licht zu zählen.

Die Fluidextrakte waren vom Augenblick ihrer Herstellung an stets einer normalen Zimmertemperatur von 15—20 ° ausgesetzt und keinen grösseren Temperaturschwankungen unterworfen worden. Dabei darf angenommen werden, dass bei dieser Temperatur keine Zersetzung durch direkte Temperatureinflüsse stattgefunden hat.

Um den Lichteinfluss zu prüfen, wurde die eine Hälfte der Fluidextrakte in weissen Gläsern an diffusem Tageslicht, der andere Teil dagegen in braunen Flaschen in einem verschlossenen Schranke aufbewahrt. Die Sedimentbildung (siehe Seite 37) und die Abnahme der Wirksamkeit (siehe Seite 38) waren jedoch bei beiden Kategorien genau gleich eingetreten, so dass von einem Einfluss des Lichtes als zerstörendem Faktor nicht die Rede sein kann.

c) Chemische Einflüsse

Es bleibt nun nur noch die Möglichkeit chemischer Einflüsse zu diskutieren. Als mögliche Ursache wäre zunächst einmal der Alkaligehalt der Aufbewahrungsgefässe zu nennen. In der Tat ist aus den betreffenden Versuchen (siehe Seite 37) ersichtlich, dass die Sediment-

bildung in den Fluidextrakten in alkalifreien Jenaer Gläsern viel weniger stark war als in den gewöhnlichen Flaschen. Wenn der Alkaligehalt der Aufbewahrungsgläser die Haltbarkeit der Fluidextrakte ungünstig beeinflusst, so hätte die Wirkungsabnahme bei den in alkaliarmen Gläsern aufbewahrten Fluidextrakten geringer sein müssen. Dies war aber, wie aus Seite 37 ersichtlich ist, nicht der Fall. Der einzige sichtbare Einfluss, den das Glasalkali ausgeübt hat, war die vermehrte Sedimentation der in alkalihaltigen Gläsern aufbewahrten Fluidextrakte.

*p*H-Bestimmungen der Fluidextrakte vor und nach der Aufbewahrung gaben auch keine Anhaltspunkte für die Ursachen der schlechten Haltbarkeit. Zur *p*H-Bestimmung wurde 1 Teil Fluidextrakt mit 9 Teilen des zur Herstellung der Fluidextrakte verwendeten Menstruums verdünnt und in dieser Lösung mit Hilfe von Lyphanstreifen der *p*H bestimmt. Sowohl die frischen wie die gelagerten Fluidextrakte wiesen dabei einen *p*H von 4,5 auf. Die Wirksamkeitsabnahme der immerhin erheblich sauren Fluidextrakte geht also nicht mit einer Aenderung des *p*H Hand in Hand, und auch der Alkaligehalt der Gläser hat keinen Einfluss auf den *p*H dieser Extrakte.

Als zweites chemisches Agens ist der Luftsauerstoff zu nennen. Die vorangegangenen Versuche betreffend die verschiedene Lagerung der Fluidextrakte (siehe Seiten 33 und 37) lassen es als sehr unwahrscheinlich erscheinen, dass dieser einen Einfluss ausübt, denn sämtliche Extrakte verloren ihre Wirksamkeit, gleichgültig, ob sie unter Luftabschluss aufbewahrt wurden oder nicht.

Die Versuche über die Aufbewahrung ergaben also, dass Drogenpulver und Trockenextrakte recht gut haltbar sind, denn beide büssten innerhalb von 2 Jahren nur maximal 20—25 % ihrer Wirkung ein. Demgegenüber steht nun die ausserordentlich schlechte Haltbarkeit der Fluidextrakte, die aus der Handelsdroge hergestellt wurden. Dabei spielt es praktisch keine Rolle, ob diese Fluidextrakte nun aus einer stabilisierten oder aus der unstabilisierten Handelsdroge hergestellt werden. Wie die Versuche ergaben, verlieren die Fluidextrakte schon innerhalb von 4 Monaten 60 % ihrer Wirksamkeit. Innerhalb von 2 Jahren werden diese flüssigen Extrakte überhaupt praktisch wirkungs-

los, so dass die Forderung der Ph. H. V, Rhabarber-Fluidextrakt dürfe nur 3 Monate lang aufbewahrt werden, vollständig zu Recht besteht.

Im weiteren liess sich diese schlechte Haltbarkeit nicht auf chemische oder physikalische Einflüsse zurückführen, lediglich die Fermentfrage musste noch offen gelassen werden.

Da es also nicht möglich war, aus der Handelsdroge ein stabiles Fluidextrakt herzustellen, und die Möglichkeit besteht, dass schon bei der Trocknung der Droge die Inhaltsstoffe derselben weitgehend verändert werden, so dass eine nachträgliche Stabilisation keinen Einfluss mehr auf die Haltbarkeit auszuüben vermag, wurde im nachfolgenden versucht, ein stabiles Fluidextrakt aus einer frischen Droge herzustellen.

d) Versuche der Herstellung eines stabilen Extraktes aus frischer Droge

Für die Versuche standen mir Pflanzen von Rheum palmatum L. aus dem Arzneipflanzengarten des pharmazeutischen Institutes Bern zur Verfügung. Dieser Rhabarber ist nach den ausgedehnten Untersuchungen von Tschirch[44] dem echten chinesischen bis auf einen etwas geringeren Anthrachinongehalt durchaus ebenbürtig.

700,0 g frisches, im November gegrabenes und gefrorenes Rhizom wurden rasch mit Eiswasser gewaschen, zur Verhinderung einer Fermentwirkung in noch gefrorenem Zustande mit einem Messingmesser geschält und in kleine Stücke zerschnitten. Bevor das Rhizom auftauen konnte, wurde es hierauf in 1 kg siedenden Alkohol von ca. 86 % gegeben und am Rückflusskühler 30 Minuten lang gekocht. Die Drogenstücke waren dabei immer mit Flüssigkeit bedeckt. Nach dem Erkalten wurde abgegossen, die Stücke so rasch als möglich in einer inoxydablen Hackmaschine zerkleinert und in ein bereitstehendes Mazerationsgemisch gebracht. Zu diesem Zwecke wurde zunächst in einer kleinen Probe der Stabilisationsflüssigkeit nach dem Kochen der Alkoholgehalt bestimmt, da der Wassergehalt der frischen Droge

[44] Tschirch: Handb. d. Pharmakognosie II, 2, S. 1367.

unbekannt war. Nun wurde durch Zusatz der berechneten Menge Weingeist dafür gesorgt, dass das Mazerationsgemisch in bezug auf Alkoholgehalt der Extraktionsflüssigkeit der Ph. H. V für Rhabarberextrakt entsprach.

Die zerkleinerte Droge wurde nun in dieser Mischung während 5 Tagen mazeriert. Perkolieren misslang, da die Droge durch das Auskochen infolge der Verkleisterung der Stärke schmierig geworden war. Dann wurde koliert und leicht abgepresst. Der Rückstand wurde nochmals mit 1 Liter des genannten Alkohol-Wasser-Gemisches 3 Tage lang unter häufigem Schütteln ausgezogen. Das Entfernen des Extraktionsmittels geschah durch Abschleudern in einer elektrischen Zentrifuge. Die vereinigten trüben Kolaturen wurden 24 Stunden bei 1 ° stehengelassen. Die Klärung geschah zuerst durch die Seitzsche Asbestfiltermasse, dann durch Sirupfilter Nr. 572,5 Schleicher & Schüll. Dann wurde im Sikotopf bei 35—38 ° zur Trockne verdampft. Das Extrakt war ausserordentlich zäh und konnte nur mittelst eines tiefen Vakuums von ca. 0,1 mm Hg aufgezogen werden.

Die Ausbeute betrug 90,0 g Extrakt, d. h. 12,8 % der frischen Droge. Dieses Trockenextrakt wird im weiteren als Extrakt D bezeichnet. Es erwies sich am Menschen als ebenso wirksam wie dasjenige aus getrockneter Droge, indem auch hier die niedrigste abführende Dosis bei ungefähr 0,5 g lag.

Auch hier wurde genau nach Ph. H. V ein Fluidextrakt hergestellt. Die Prüfung am Menschen ergab, wie bei den Fluidextrakten A, B und C, als kleinste wirksame Dosis eine solche von 1,0 g.

Um die Einwirkung des Sauerstoffs möglichst auszuschliessen, wurde das Trockenextrakt stets im Vakuum aufbewahrt und das Fluidextrakt sofort nach der Herstellung in sterile, möglichst vollständig gefüllte Ampullen von 5 ccm Inhalt abgefüllt, die sofort verschlossen wurden. Um auch hier einen eventuellen Einfluss von Glasalkali und Licht prüfen zu können, wurden z. T. Ampullen aus alkaliarmem Jenaer Glas und solche aus gewöhnlichem alkalihaltigem Glas verwendet, von denen die Hälfte am Licht und die andere Hälfte an der Dunkelheit aufbewahrt wurden. Zu Vergleichszwecken wurden auch von den Extrakten A, B und C frische Fluidextrakte hergestellt und gleicherweise in Ampullen abgefüllt.

Eine Serie dieser abgefüllten Ampullen wurde dann im freiströmenden Wasserdampf bei ca. 100° während einer halben Stunde sterilisiert. Die physiologische Wirkung der so der Hitzeeinwirkung ausgesetzten Fluidextrakte hatte durch die Sterilisation nicht abgenommen, indem sie kurz nachher noch die gleiche Wirksamkeit aufwiesen wie vor der Sterilisation. Die Ampullen wurden in einen verschlossenen Schrank gestellt und nach 7 Monaten erneut geprüft.

Die abführende Wirkung war bei allen vier Ampullengruppen Extrakt A, B, C und D vollständig verlorengegangen, indem an sechs Personen auch in Dosen von 10,0 g nicht mehr der geringste Effekt festgestellt werden konnte. In bezug auf Aussehen hatten sich die Lösungen ungleich verändert: In Extr. fluidum B war ein sehr starker Bodensatz festzustellen; Lösung C und A wiesen auch Sedimente auf, allerdings A sehr wenig, während das aus der frischen Droge hergestellte Extrakt D vollständig klar geblieben war. Auch war diese Extraktlösung die dünnflüssigste von allen, obschon sie genau gleich wie die anderen dargestellt worden war und gleich viel Trockensubstanz enthielt. In den alkalifreien Ampullen waren die Sedimente um ein Geringes weniger stark als in den gewöhnlichen Ampullen, welche Beobachtung ja auch schon beim Aufbewahren der Lösungen in Flaschen gemacht worden war (siehe Seite 37).

Die Frage, ob der Sauerstoff die Abnahme der Wirksamkeit von Extr. Rhei fluidum hervorruft oder beschleunigt, muss verneint werden, denn die äusserst geringe Menge Luft (ca. 0,3 ccm), die noch in den Ampullen vorhanden war, kann wohl kaum für die tiefgreifenden Veränderungen verantwortlich gemacht werden. Auch auf eine Fermentwirkung lässt sich die Abnahme der Wirksamkeit hier nicht zurückführen. Das frische Fluidextrakt D erwies sich als katalasefrei, ebenso sämtliche Ampullen von Extrakt A, B und C nach der Sterilisation, so dass also angenommen werden darf, dass keine Fermente mehr vorhanden waren. Trotzdem verloren aber auch alle sterilisierten Ampullen von Extrakt A, B und C wie auch das Fluidextrakt D ihre Wirkung vollständig.

Einzig der p_H weist bei Extrakt D geringfügige Veränderungen auf. Das frisch bereitete Fluidextrakt D weist, wie alle anderen Fluid-

extrakte, einen p_H von 4,5 auf. Nach 7monatiger Lagerung steigt der p_H beim nichtsterilisierten Fluidextrakt D auf 4,7 an, währenddem er bei demselben sterilisierten Fluidextrakt nach 7 Monaten 4,1 beträgt. Wenn sich der p_H bei sämtlichen Extrakten während der Lagerung nach der sauren Seite hin verschieben würde, könnte man daraus ableiten, dass irgendeine Hydrolyse begünstigt würde, die auch die Wirkungsabnahme erklärlich machen könnte. Da dies aber nicht der Fall ist und der p_H bei den Fluidextrakten A, B und C bei der Lagerung praktisch gleich bleibt, beim Extrakt D einmal sinkt und einmal sogar ansteigt, die Wirksamkeit aber bei den Extrakten in gleicher Weise verschwindet, lässt sich auch aus der Variation des p_H bei Fluidextrakt D kein Rückschluss auf die Ursache der Wirkungsabnahme ziehen.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Abnahme der Wirksamkeit von flüssigen Rhabarberextrakten aufzuklären, resp. die letzteren haltbar zu gestalten, konnte auf dem Wege der Stabilisation und der Fernhaltung von Luft, Licht und Glasalkali nicht gelöst werden. Da es nicht möglich war, den Wirksamkeitsverlust der Fluidextrakte auf die Einwirkung von Fermenten und auf andere äussere Einflüsse, wie Sauerstoff, Licht und Glasalkalinität, zurückzuführen, indem bei Fernhaltung aller dieser Agenzien das Fluidextrakt trotzdem seine Wirksamkeit verliert, muss die Ursache auf einer anderen Ebene gesucht werden. Es besteht die Möglichkeit, dass vielleicht das Lösungsmittel selbst, das zur Herstellung der Fluidextrakte verwendet wird, nämlich ein ca. 60prozentiger Spiritus, hydrolytische Veränderungen der Substanzen herbeizuführen vermag, oder die wirksame Substanz unterliegt überhaupt in Lösung autoxydativen Prozessen, die auch bei Ausschluss von Luftsauerstoff und unabhängig von der Anwesenheit von Glasalkali und Fermenten ihren Fortgang nehmen. Um diese Frage abzuklären, schien es uns am einfachsten, in erster Linie einmal, wenn möglich, die wirksamen Substanzen in reiner Form zu isolieren, damit diese auf ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften hin geprüft werden können und somit Rückschlüsse oder sogar Vorschriften für die Herstellung eines haltbaren Fluidextraktes ermöglichen.

Bis heute ist es noch niemandem gelungen, die wirksamen Sub-

stanzen von Rheum in reiner Form kristallin zu erhalten. Tschirch und seine Mitarbeiter[45] hatten kristallisierte Anthrachinonderivate isoliert und sie zuerst für die wirksamen Substanzen gehalten. Göldlin aber hat in seiner Arbeit[46] eindeutig bewiesen, dass diese Anthrachinonderivate nur zu einem ganz geringen Teil für die Wirkung des Rhabarbers verantwortlich zu machen sind, indem dieser Autor wie auch Kroeber[47] festgestellt hat, dass ein Rhabarber, dem man die freien Anthrachinone entzogen hat, immer noch eine sehr starke Wirksamkeit aufweist. Im übrigen ist man über die Art dieser wirksamen Substanzen noch auf Vermutungen angewiesen, indem man annimmt, dass wahrscheinlich die Reduktionsprodukte der Anthrachinone, nämlich Anthrone oder Anthranole, resp. sogar deren Glykoside, die wirksamen Stoffe des Rhabarbers darstellen. Diese Auffassung wird z. T. durch die Arbeit Göldlins (loc. cit.) gestützt, der konstatierte, dass beim Durchleiten von Luft durch einen alkalischen Rhabarberauszug der Anthrachinongehalt desselben stark ansteigt, dafür aber die Wirksamkeit abnimmt.

Im folgenden Abschnitt dieser Arbeit soll nun über den Versuch, die wirksamen Substanzen zu isolieren oder zum mindesten anzureichern, Näheres berichtet werden.

5. Isolierungsversuch der wirksamen Bestandteile des Rhabarbers

a) Entfernen der Anthrachinone aus dem Rhabarber

Da Göldlin und Kroeber (loc. cit.) schon gezeigt hatten, dass die freien Anthrachinone nur wenig wirksam sind, wurde in erster Linie versucht, diese aus dem Extrakte zu entfernen. Diese Extraktion geschah in unserem Falle durch Perforation. Dazu wurde ein Perforator benützt, wie er von Pritzker und Jungkunz beschrieben wurde[48]. Es ist dies ein Perforator, der mittelst eines Dreiweghahns

[45] Tschirch: Archiv der Pharmazie 1902, 240, S. 596—630.
[46] Göldlin: Diss. Basel 1924.
[47] Kroeber: Schweiz. Apoth. Ztg. 1923, S. 236.
[48] Pritzker und Jungkunz: Pharm. Act. Helv. **14,** S. 223 (1939).

sowohl für spezifisch leichte als auch für schwerere Extraktionsmittel verwendet werden kann, indem das verwendete Extraktionsmittel je nach seinem spezifischen Gewicht die zu extrahierende Lösung einmal von unten nach oben oder im umgekehrten Sinn durchströmt.

100,0 g einer 5prozentigen, wässerigen Lösung von Extrakt C wurden im obenerwähnten Apparat mit 200 ccm Aether perforiert, wobei sich dieser stark gelb färbte. Nach 3 Tagen war die Aetherschicht fast farblos geworden, so dass die beiden Flüssigkeiten im Scheidetrichter getrennt und die wässerige nochmals mit 200 ccm frischem Aether perforiert wurde. Zur Prüfung, ob die freien Anthrachinone vollständig extrahiert waren, wurden einige Kubikzentimeter der zuletzt abgetrennten farblosen ätherischen Lösung mit verdünnter Kalilauge versetzt und gut durchgeschüttelt. Die Lauge blieb dabei farblos. Dieser negative Ausfall der Bornträger-Reaktion zeigte die Entfernung der freien Anthrachinone an.

Die wässerige Lösung des Extraktes, die keine Anthrachinone mehr an den Aether abgegeben hatte, konnte leider aus äusseren Gründen nicht sofort eingedampft werden; sie musste eine Woche lang stehenbleiben. Nach dieser Zeit war die Bornträger-Reaktion wieder stark positiv, auch war ein schimmeliger Geruch wahrzunehmen. Der erneute positive Ausfall der Bornträger-Reaktion zeigt uns also, dass wieder freie Anthrachinone entstanden sind, einerseits durch Einwirkung des Luftsauerstoffes auf Anthranole und Anthrone, andererseits durch Einwirkung der Schimmelpilze auf die Glykoside, wobei eine kombinierte Wirkung der zwei Einflüsse gar nicht ausgeschlossen ist.

Da demnach das obige Gemisch durch das Stehen irgendwie verdorben schien, wurde der Versuch noch einmal angesetzt: 100,0 g einer diesmal 10prozentigen, wässerigen Lösung von Extrakt C wurden wieder unter zwei Malen während einiger Tage mit Aether bis zum negativen Ausfall der Bornträgerschen Reaktion perforiert. Die im Scheidetrichter getrennten Lösungen wurden für sich weiterbehandelt. Die ätherische Schicht war dunkelgelb, nach Eindunsten hinterblieb an den Wänden des Kolbens ein brauner, schmieriger Rückstand, der nicht berücksichtigt wurde.

Die wässerige Schicht wurde bei niederer Temperatur (35 °) im

Vakuum-Jenaer-Topf eingedampft. Es entstanden hierbei 8,0 g eines trockenen, braunen Extraktes, das sehr bitter war und in frischem Zustande eine nur schwache Bornträger-Reaktion aufwies. Nach einigen Tagen jedoch fiel diese Reaktion bedeutend stärker aus, was die Vermutung aufkommen lässt, dass das Extrakt eventuell Anthranole oder Anthrone, resp. deren Glykoside, enthält, die mit der Zeit unter Einwirkung irgendwelcher Oxydantien zu Anthrachinonderivaten oxydiert werden, welche dann den positiven Ausfall der Bornträger-Reaktion bewirken.

Um dieser Vermutung nachzugehen, wurden 0,1 g Extrakt in 5 ccm Wasser gelöst, mit 3 ccm verdünnter Schwefelsäure einige Minuten lang gekocht, erkalten gelassen und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Schicht wurde abgetrennt und mit verdünnter Kalilauge gut durchgeschüttelt. Eine entstehende Rotfärbung der Kalilauge beweist die Anwesenheit von Anthrachinonen. Dadurch, dass bei der Ausführung der Bornträger-Reaktion mit Säure gekocht wird, werden neben den freien Anthrachinonen auch die Anthrachinonglykoside, nicht aber Anthranol- oder Anthronderivate, erfasst. Der fast negative Ausfall der Bornträgerschen Reaktion beweist, dass also die ersteren nur in geringer Menge vorhanden sein können. Wenn im weiteren von der Bornträger-Reaktion gesprochen wird, so ist darunter immer die Reaktion nach erfolgter Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure zu verstehen.

Um zu versuchen, rascher ein vollständig anthrachinonfreies Extrakt zu erhalten, wurden weitere 100,0 g einer 10prozentigen, wässerigen Lösung von Extrakt C mit Amylalkohol perforiert. Dieses Verfahren musste aber verlassen werden, da eine überaus starke Emulsionsbildung eintrat, und da sich zudem dieses Extraktionsmittel viel weniger rasch mit Anthrachinonen belud als der Aether.

Um den hydrolytischen Einfluss des Wassers vollständig auszuschalten, wurde nun versucht, das Trockenextrakt direkt auszuziehen. Zu diesem Zwecke wurden 10,0 g Extrakt C trocken fein verrieben und in einem Kölbchen mit 50 ccm eines Gemisches von Aether und Methylalkohol (7+3) eine halbe Stunde lang geschüttelt und abfiltriert. Der Rückstand erwies sich mit Hilfe obiger Reaktion als

fast anthrachinonfrei. Die Reaktion wurde jedoch schon nach ein paar Stunden wieder stärker. In der Aether-Methylalkohol-Lösung bildeten sich nach 2 Tagen schon von blossem Auge sichtbare, würfelförmige Kristalle, die süss schmeckten und Fehlingsche Lösung reduzierten. Es handelt sich wahrscheinlich um einen Zucker, der aber wegen der sehr geringen Menge nicht näher untersucht werden konnte. Die fraglichen Zuckerkristalle wurden durch Filtrieren abgetrennt und das Filtrat eingeengt: Es bildeten sich darin weisse Flöckchen von kristalliner Struktur, die nach einigen Wochen in kugelige, aus Nadeln bestehende Gebilde übergingen. Infolge ihrer geringen Menge konnten sie jedoch nicht weiter untersucht werden.

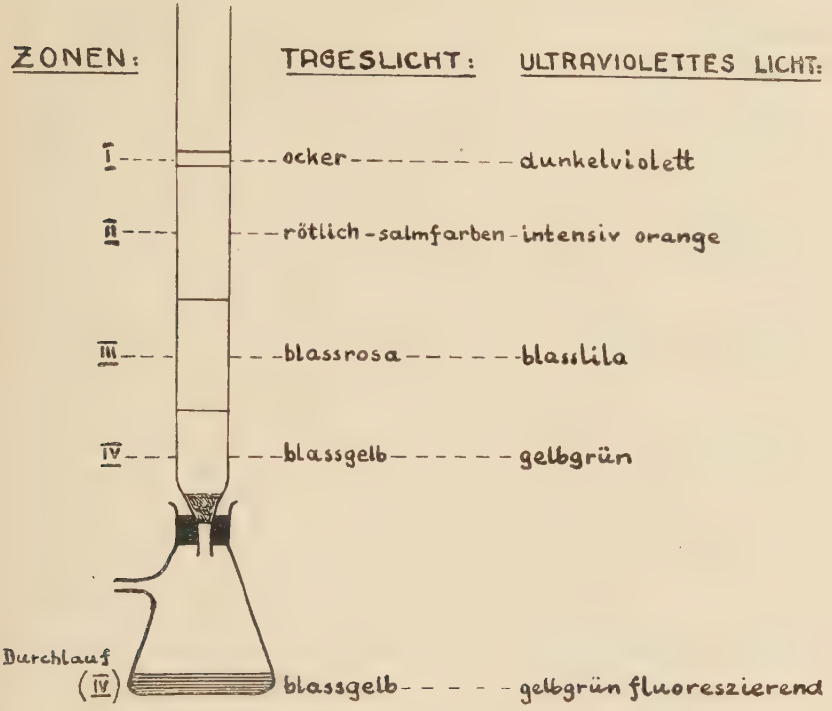
Da es uns mit Hilfe von Lösungsmitteln und verschiedenen Extraktionsarten nicht gelang, einwandfrei anthrachinonfreie Extrakte zu erzielen und auch schon andere Autoren mit Hilfe von verschiedenen Lösungsmitteln und Kristallisationsversuchen zu keinem greifbaren Resultate gelangt waren, versuchten wir nun mit Hilfe der Chromatographie, die sich in den letzten Jahren zur Isolierung aller möglichen Substanzen ausserordentlich fruchtbar erwiesen hat, dem Ziele näherzukommen.

Als Adsorptionsmittel diente in den vorliegenden Untersuchungen Aluminium oxydatum anhydricum purissimum Siegfried. In einem Vorversuch wurden 10 ccm einer 1prozentigen Lösung von Extrakt C in einem Alkohol-Wasser-Gemisch vom Verhältnis 25+40 durch eine kleine Glasröhre geschickt, die unter leichtem Klopfen gleichmässig mit Aluminiumoxyd gefüllt worden war. Die Dimensionen der Säule betrugen 5×80 mm.

Eine Entwicklung der Säule mit reinem Lösungsmittel mit dem Zwecke, die einzelnen Zonen etwas auseinanderzuziehen, war nicht notwendig, indem die einzelnen Zonen schon ziemlich breit waren.

Die Säule wurde unter der Quarzlampe in ihre vier Zonen zerlegt und diese mit verdünntem, 70prozentigem Spiritus extrahiert. Die Ausbeute war schlecht, was sich auch daran zeigte, dass das Aluminiumoxyd stark gefärbt blieb. Die Eluate wurden einzeln auf dem Wasserbade eingedunstet, nachdem sie mehrmals filtriert worden waren.

Die Lösung wurde durch verschieden starke Adsorption in folgende Zonen zerlegt:



Zone I hinterliess einen zitronengelben, klebrigen, nichtkristallinen Rückstand mit dem typischen Rheumgeruch, der Geschmack war leicht bitter und adstringierend.

Zonen II und III waren schwer zu trennen, da die Farben ineinander übergingen. Daher wurden sie gemeinsam verarbeitet. Der klebrige Rückstand war kupfer- bis kirschrot, geruchlos und zeigte vereinzelte, winzige Kristalleinschlüsse. Der Geschmack war süsslich, nicht bitter.

Das Eluat der Zone IV wurde mit dem Durchlauf vereinigt, da sowohl die Farbe am Tageslicht wie auch die Fluoreszenz unter der Quarzlampe identisch waren und somit angenommen werden konnte, dass es sich um dieselben Substanzen handle. Nach Ein-

dunsten hinterblieb ein klebriger, hellockerfarbener Rückstand, der aromatisch roch und zuerst süsslich, dann laugig schmeckte. Unter dem Polarisationsmikroskop erschien er als aus vielen langen Nadeln bestehend.

Um festzustellen, in welchen Zonen die Anthrachinone adsorbiert werden, wurde eine etwas grössere Säule angefertigt als die eben beschriebene. Die Dimensionen betrugen 320 × 25 mm. Man adsorbierte 100,0 g einer 2prozentigen wässerigen Lösung von Extrakt C. Das Zonenbild war dasselbe wie beim Probechromatogramm. Die noch feuchte Aluminiumoxydmasse wurde aus der Röhre herausgestossen und in die analog gefärbten Zonen wie im Vorversuch zerschnitten. Von jeder Zone wurde eine kleine Probe mit verdünntem Spiritus eluiert. Nach Filtration wurde mit verdünnter Schwefelsäure erhitzt und nach Erkalten die Bornträger-Reaktion, wie schon früher beschrieben (siehe Seite 55), ausgeführt.

Die Bornträger-Reaktion verlief positiv bei Zone I, wogegen die Zonen II, III und IV und der Durchlauf sich als frei von Anthrachinonen erwiesen.

Zwecks Isolierung der anthrachinonfreien Bestandteile aus Extrakt C wurde nun ein grosses Chromatogramm hergestellt. Die Dimensionen der Säule waren diesmal 90 × 10 cm. Dazu wurde 1,5 kg Alumina anhydrica oxydata amorph verwendet, die in kleinen Portionen unter Klopfen und Stopfen eingefüllt wurde.

45,0 g Extrakt C wurden als 3prozentige Lösung in 1,5 Liter Wasser durch die Säule geschickt. Die Filtration der sehr trüben Lösung gelang nicht sofort. Ein befriedigendes Resultat wurde erreicht, nachdem sie 24 Stunden im Eisschrank gestanden hatte, sie liess sich dann durch Spezialfilter Schleicher & Schüll Nr. 591, extra dick für schwierig zu klärende Lösungen, und Nr. 602, extra hart für feinste Niederschläge, die kein anderes Papier zurückhält, endlich klar bekommen. Nach längerem Stehen jedoch, z. B. über Nacht, bildete sich immer wieder eine Trübung.

Die auf die Säule gegossene Lösung hatte nach 10 Stunden den unteren Rand erreicht und tropfte dann freiwillig durch (1 gtt/sek). Oben wurde fortwährend destilliertes Wasser nachgegossen, um ein Austrocknen der Säule zu vermeiden und um gleichzeitig die Zonen

etwas zu entwickeln, was besonders für die oberen Zonen wichtig war.

Die Zonen erwiesen sich grosso modo mit denjenigen des Probechromatogramms (siehe Seite 57) identisch, nur waren sie z. T. noch unter sich in wenig variierende Farbtöne aufgeteilt. Durch das Entwickeln konnte die unterste, hellgelbe Zone ganz als Durchlauf herausgewaschen werden. Sie war auch hellgelb und unter der Quarzlampe hellgrün fluoreszierend wie der erste Durchlauf. Die beiden Lösungen wurden daher miteinander vereinigt und entsprechen der Zone IV. Sie wurden klar filtriert und im Jenaer Topf bei 30 ° eingedampft. Man erhielt 6,88 g eines sehr hygroskopischen, schmierigen Extraktes von brauner bis rotbrauner Farbe. Der Geruch war widerlich süss, nicht rheumartig. Der Geschmack war süss, dann brennend und leicht bitter. Die Bornträger-Reaktion fiel, wie nach dem oben Gesagten zu erwarten war, negativ aus.

Die oberen, unter der Bezeichnung Zone I zusammengefassten, dunkel gefärbten Teile ergaben nach Ausstossen und Elution der Säule einen stark positiven Ausfall der Bornträger-Reaktion. Diese Zone wurde daher abgetrennt, da uns die Anthrachinone nicht weiter interessierten.

Die verbleibenden Zonen II und III, deren Farben stark ineinander übergingen, wurden vereinigt. Sie ergaben auch nach Hydrolyse mit Schwefelsäure eine negative Anthrachinonreaktion. Sie wurden zunächst durch viermaliges Schütteln mit je 1 Liter 3prozentigem Methylalkohol während einer halben Stunde eluiert. Jedesmal wurde durch ein Seitz- und durch ein dreifaches gewöhnliches Filter passiert. Nach dem vierten Mal blieb die anfänglich gelbrote Lösung farblos. Diese wurde im Jenaer Topf bei 40 ° im Vakuum eingedampft. Es fielen nur 0,3 g eines sehr hygroskopischen, schwarzbraunen Extraktes an, das sauer-adstringierend schmeckte und die Bornträger-Reaktion nicht gab. Es war mit orangeroter Farbe in Wasser leicht löslich.

Da das mit Methylalkohol eluierte Aluminiumoxyd noch sehr stark gefärbt war, wurde es nun mit 10prozentigem Aethylalkohol eluiert. Es ergaben sich nach viermaligem Schütteln mit je 1 Liter dieses Alkohols beim Eindampfen 0,3 g eines sehr schmierigen, dunkel-

braunen Extraktes, das stark sauer schmeckte. Die Bornträger-Reaktion war ebenfalls negativ.

Infolge des geringen Ertrages unternahm man anschliessend eine Elution mit einer 10prozentigen, wässerigen Pyridinlösung. Die Ausbeute war noch geringer, nämlich 0,23 g eines rotbraunen Rückstandes aus Schüppchen von süsslichem Geschmack.

Man versuchte nun anschliessend, eine bessere Ausbeute zu erhalten durch Elution mit verdünnter Schwefelsäure. Zuvor musste jedoch erst das Pyridin vollständig entfernt werden. Waschen mit Wasser führte nicht zum Ziel, ebensowenig Verdunstenlassen an der Luft oder sogar Absaugen des Pyridins im Schwefelsäure-Exsikkator. Es war notwendig, das Aluminiumoxyd bei 40 ° vollständig zu trocknen; erst dann war der Geruch nach Pyridin vollständig verschwunden.

Da das Aluminiumoxyd auch nach der Elution mit Pyridin immer noch sehr stark gefärbt war, was mit anderen Worten andeutet, dass die Substanzen ausserordentlich fest am Adsorptionsmittel hafteten, war anzunehmen, dass es sich, entsprechend dem gefundenen *p*H der Extrakte (siehe Seite 48), vielleicht um sauer reagierende Bestandteile handeln könnte, die mit dem Aluminiumoxyd gleichsam eine den Farblacken ähnliche, salzartige Verbindung eingingen und die nur durch Anwendung einer stärkeren Säure wieder aufgespalten werden könnte. Aus diesem Grunde wurde verdünnte Schwefelsäure verwendet, da diese als unlösliches Bariumsalz am leichtesten nachher wieder aus der Lösung entfernt werden kann. Um aber eine hydrolysierende Wirkung der Säure möglichst zu vermeiden, durfte bei der Elution keine höhere Temperatur verwendet werden.

Die Elution geschah durch Schütteln des trockenen rötlichen Pulvers mit 2prozentiger Schwefelsäure, die sich dabei tief orange färbte. Nach viermaliger Elution mit je einem Liter 2prozentiger Schwefelsäure blieb diese farblos. Die Lösungen wurden vereinigt, durch mehrere Doppelfilter filtriert und mit Bariumkarbonat vorsichtig neutralisiert, wozu es ungefähr 350,0 g brauchte. Als das Gemisch lakmusneutral war, wurde vom Bariumsulfat abfiltriert und im Vakuumtopf bei 40 ° eingedampft. Es hinterblieb 1,0 g eines trockenen, hellen, ziegelroten Pulvers, das einen faden Geschmack hatte und die Bornträger-Reaktion nicht gab.

Die Totalausbeute aus diesem chromatographischen Versuch betrug also aus 45,0 g Trockenextrakt:

Zone I war, da die Anthrachinone enthaltend, nicht ausgezogen worden.	
Zonen II+III ergaben nach Elution mit	
Methylalkohol	0,3 g
Aethylalkohol	0,3 g
Pyridin	0,23 g
verdünnter Schwefelsäure, 2prozentig	1,0 g
Zone IV+Durchlauf ergaben zusammen	6,88 g
	Total 8,71 g

Es ist nicht wahrscheinlich, dass sich die restlichen 36,29 g in Zone I befinden, welche relativ schmal, wohl aber etwas dunkler gefärbt war. Um einen Anhaltspunkt für die dort gebundene Extraktmenge zu bekommen, wurde die Zone I nun noch mit warmem 10prozentigem Aethylalkohol ausgezogen. Es ergaben sich dabei 1,8 g eines dunklen, braunen Rückstandes, der eine stark positive Bornträger-Reaktion gab und sehr bitter schmeckte.

Wenn man diese Menge den oben erhaltenen zufügt, so kommt man zu der niedrigen Gesamtausbeute von

$$\begin{array}{r} 8{,}71 \\ +\ 1{,}8 \\ \hline =10{,}51\ \text{g} \end{array}$$

welches Quantum bloss 23,35 % des zum Chromatogramm verwendeten Extraktes darstellt.

Man suchte daher nach einem Adsorptionsmittel, das die adsorbierten Stoffe leichter wieder abgibt. Floridin XXF, sowie Calc. carbonicum praecipitatum und Talcum führten nicht zum Ziel, da sich bei Verwendung dieser Adsorbentien überhaupt keine Zonen ausbildeten, oder weil die Lösung, z. B. bei Verwendung von Talk, gar nicht zum Durchtropfen zu bringen war. Die Säulen erwiesen sich als gleichmässig hellbraun und waren nicht zu gebrauchen.

Andere Lösungsmittel kamen nicht in Frage, da das Extrakt nur in Wasser oder verdünntem Alkohol löslich ist, wobei der letztere

wegen seiner stark eluierenden Fähigkeit bei der Adsorption tunlichst vermieden werden muss.

Nachdem nun mit drei verschiedenen Methoden versucht worden war, aus Rhabarberextrakt die Anthrachinone und die Anthrachinonglykoside abzutrennen, was zwar mehr oder weniger gelang, wollte man den wirklich anthrachinonfreien Rückstand physiologisch auf seine Wirksamkeit prüfen.

Die aus der Perforation einer wässerigen Extraktlösung und aus dem direkten Ausziehen des Trockenextraktes mit Aether hervorgegangenen Rückstände ergaben nur unmittelbar nach ihrer Herstellung eine negative Bornträger-Reaktion. Unter dem Einfluss irgendwelcher oxydierender Kräfte wurden die im Rhabarber wahrscheinlich vorliegenden Reduktionsprodukte bald wieder zu den selbst auch leicht wirksamen Anthrachinonderivaten oxydiert. Die abführende Wirkung dieser Rückstände war leicht positiv, aber aus den obenerwähnten Gründen war es nicht sicher, ob diese Wirkung auf Anthrachinonderivate oder auf andere Substanzen zurückzuführen sei. Es war mittelst der Chromatographie gelungen, die Anthrachinonderivate, die freien wie die gebundenen, vollständig abzutrennen. Die Eluate und der Durchlauf, die aus den anthrachinonfreien Zonen gewonnen wurden, hätten nun auf ihre Wirksamkeit hin untersucht werden sollen. Da die Menge aber dermassen gering war, reichte sie nur zu einem einzigen Versuche an einer Person aus, der keinen eindeutigen Schluss zu ziehen zuliess. Zudem hätte ein negatives Resultat auch nicht eine sichere Folgerung zugelassen, dass diese anthrachinonfreien Fraktionen unwirksam seien, da, wie aus der Zusammenstellung auf Seite 61 ersichtlich ist, mehr als die Hälfte des adsorbierten Extraktes nicht mehr zurückzugewinnen war.

Es musste daher erneut nach einem anderen Wege zur Fassung der nichtanthrachinonartigen wirksamen Bestandteile des Rhabarbers in genügender Menge gesucht werden. Zu diesem Zwecke wurde, in ähnlicher Weise, wie dies schon Siegrist[49] getan hatte, eine vollständige Aufarbeitung der Droge durch fraktionierte Extraktion vorgenommen. Das Ziel war, die in den verschiedenen Unter-

[49] Siegrist: Diss. Basel 1932.

suchungsgängen erhaltenen Extrakte zu prüfen und dann die am stärksten wirksame Fraktion eventuell chromatographisch weiter aufzuarbeiten.

b) Aufarbeitung der Droge durch fraktionierte Extraktion

Verwendet wurde 1 kg frisch pulverisiertes Rhiz. Rhei Shensi 3/4 mundatum pulvis grossus.

Die Droge wurde in der Maschine mehrmals mit je 2 kg Aether während 24 Stunden geschüttelt. Die grünlichgelbe Lösung wurde jedesmal abgegossen und durch frischen Aether ersetzt, der nach achtmaligem Schütteln fast farblos war. Die gesammelten Aetherlösungen wurden filtriert, im Jenaer Topf der grösste Teil des Aethers abdestilliert und gegen das Ende im Vakuum zur Trockne gebracht. Es ergaben sich 15,0 g eines kaffeebraunen, lockeren Extraktes, dessen Brocken im Inneren gelbgrün waren. Das Extrakt fühlte sich sehr fettig an. Der Geruch war widerlich, wie angebrannt, der Geschmack sehr bitter und adstringierend. Die Bornträger-Reaktion verlief positiv. Das Extrakt war in Wasser nur teilweise mit gelber Farbe trübe löslich.

Die Wirksamkeit dieses Extraktes war in Dosen von 0,5 g negativ, in solchen von 1,0 g nur sehr schwach positiv, jedoch unter heftigen Leibschmerzen.

Das durch Trocknen an der Luft vom Aether befreite Drogenpulver wurde sechsmal mit je 3 kg Chloroform ausgeschüttelt. Hierbei wurde die anfänglich gelbgrüne Lösung fast farblos. Die Extraktbrühen wurden nun vereinigt, filtriert und in gleicher Weise wie das Aetherextrakt zur Trockne gebracht. Man erhielt nur 3,0 g eines tiefgrünen, fast schwarzen Extraktes, das sich sehr fettig anfühlte. Sein Geschmack war leicht bitter und zusammenziehend, der Geruch sehr widerlich und intensiv. Die Bornträger-Reaktion fiel positiv aus. Das Extrakt war unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aether. Wirkung: 0,5 g wirkten nach 2 Tagen ganz schwach abführend.

Das vom Chloroform befreite Drogenpulver wurde nun sechsmal mit je 3 kg Azeton einen Tag lang geschüttelt. Die Lösung war dunkelorange bis rotbraun. Nach dem Filtrieren wurde unter ver-

mindertem Druck eingedampft, wobei 84,0 g eines goldgelben, luftigen Extraktes anfielen. Da die Droge noch nicht erschöpft zu sein schien, wurde sie anschliessend noch während 6 Tagen im Evakolator nach Kessler mit Azeton ausgezogen. Es konnten auf diese Weise noch 14,0 g eines etwas dunkleren, trockenen Extraktes erhalten werden. Der Geruch und Geschmack war bei diesen beiden Azetonextrakten gleich. Sie gaben noch eine, wenn auch schwache, positive Bornträger-Reaktion und wirkten bei drei Personen von 0,5 g an aufwärts nicht abführend, sondern leicht stopfend, während kleinere Dosen überhaupt keinerlei Wirkung aufzuweisen hatten.

Der Rückstand der Azetonextraktion wurde nun durch mehrmaliges Ausschütteln mit je 3 kg Methylalkohol erschöpft. Die Lösung wurde auch hier dunkelorange und ergab nach Filtrieren und Eindampfen 50,0 g eines gelbbraunen, trockenen Extraktes von süsslichem und zusammenziehendem Geschmack. Es war klar in Wasser löslich. Bei drei Personen wirkte eine Dosis von 0,5 g negativ, eine solche von 1,0 g ganz leicht abführend.

Das nun fast geschmack- und geruchlose Drogenpulver wurde zuletzt noch mit kaltem destilliertem Wasser wiederholt ausgeschüttelt, da Versuche, das Pulver zu perkolieren oder in starkem Vakuum zu evakolieren, völlig misslangen. Die Lösung war gelblich, stark trübe und schleimig, fast geruch- und geschmacklos. Alle bisher angewandten Filtrationsmethoden versagten, und es musste auch hier zum Abschleudern gegriffen werden. Nach anschliessender Defäkation im Eisschrank konnte die Lösung durch Spezialfilter ziemlich geklärt werden. Eingedampft wurde sie bei vermindertem Druck bei 40 °. Es fielen dabei 40,0 g eines dunkelbraunen, trockenen Extraktes an, das fade, ganz verschieden von allen bisherigen schmeckte und einen schwach aromatischen Geruch besass. Die Bornträger-Reaktion war diesmal, auch nach vorangegangener Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure, vollständig negativ.

Selbstversuche ergaben eine ausserordentlich starke Wirkung, und es wurde daher ein Versuch mit ansteigenden Dosen an den gleichen Personen ausprobiert, die früher schon für ähnliche Versuche wertvolle Dienste geleistet hatten.

Tabelle 26 **Wirksamkeit des Wasserextraktes am Menschen**

Person	0,1 g	0,2 g	0,3 g	0,4 g	0,5 g
1	—	+	+++	++++	++++
2	—	+	++	++	+++
3	—	++	+++	++++	++++
4	+	++	+++	++++	+++
5	—	++	+++	++++	+++
6	—	++	++	+++	++++

— = keine Wirkung ++ = gute Wirkung
+ = schwache Wirkung +++ = starke Wirkung
++++ = sehr starke Wirkung

Dieses Extrakt wirkte also im Gegensatz zu den vorhergehenden schon in relativ kleinen Dosen von 0,2 bis 0,3 g stark abführend. Wie aus Tabelle 16 auf Seite 28 ersichtlich ist, wirkten die Trockenextrakte A, B und C am Menschen erst bei einer Dosis von 0,5 g, und es wurden bei der Herstellung dieser Extrakte aus der Droge ca. 40 % Trockenextrakt erhalten.

Das Wasserextrakt (siehe Seite 64) betrug nur 40,0 g, was bei Verwendung von 1 kg Droge einer Extraktausbeute von ca. 4 % entspricht. Wenn dieses Wasserextrakt die gesamte wirksame Substanz von Rhiz. Rhei enthalten würde, müsste es schon bei einer Dosis von 0,05 g eine abführende Wirkung besitzen. Es wirkt aber erst bei einer solchen von 0,2 g bis 0,3 g. Damit ist deutlich bewiesen, dass auch in den vorhergehenden Extrakten, nämlich im Aether-, Chloroform- und hauptsächlich im Methylalkohol- und Azetonextrakt, schon wesentliche Mengen wirksamer Substanz enthalten sein müssen, und dass das Wasserextrakt nur ungefähr ein Fünftel der gesamten wirksamen Substanzen enthalten kann. Effektiv besitzen ja sowohl das Aether- wie auch das Chloroform- und Methylalkoholextrakt eine, wenn auch geringe Wirksamkeit. Das Azetonextrakt dagegen besitzt, wie die physiologischen Versuche ergeben haben, keine abführende Wirkung, sondern sogar eine leicht stopfende. Das Azeton- wie auch das Methylalkoholextrakt besitzen einen ausserordentlich starken, adstringierenden Geschmack und enthalten somit praktisch die gesamten Gerbstoffe des Rhabarbers. Es ist nun ohne weiteres erklärlich, dass die adstringierende und somit auch stopfende Wirkung der Gerbstoffe

dieser beiden letzteren Extrakte die abführende Wirkung der übrigen Rheumbestandteile zum Teil neutralisiert, und dass beim Azetonextrakt sogar die stopfende Wirkung der Gerbstoffe überwiegt. Dies wird am besten durch nachfolgende Tabelle veranschaulicht, wo in der letzten Kolonne die errechenbaren Ausbeuten an wirksamer Substanz der einzelnen Extrakte zusammengestellt sind, welche zusammen nur 36 % ergeben. Das Manko von ungefähr 60 % wird sich zum grössten Teil noch auf das Methylalkohol- und Azetonextrakt, die besonders reich an Gerbstoffen sind, verteilen. Allerdings ist es fraglich, ob nicht auch solche in der Droge zurückgeblieben sind, da die Gesamtextraktausbeute nur etwa die Hälfte gegenüber den Extrakten A bis D beträgt.

Tabelle 27 Zusammenstellung der Extraktausbeute von 1 kg Ausgangsdroge und der scheinbaren Ausbeute an wirksamer Substanz, bei der sukzessiven Extraktion der Droge mit verschiedenen Lösungsmitteln

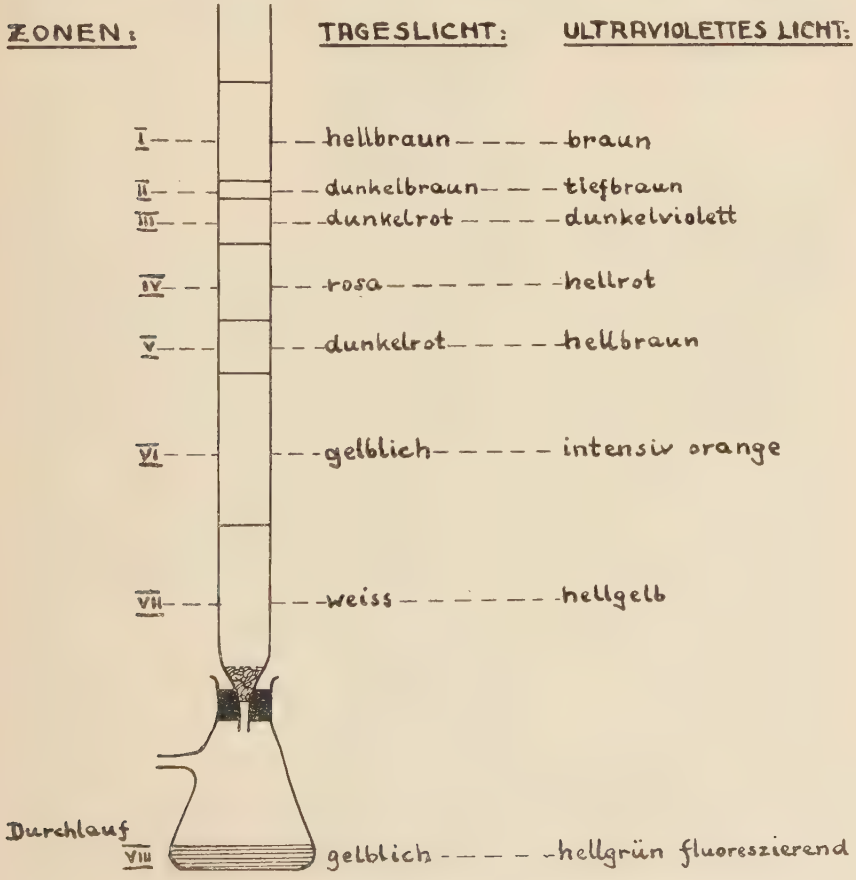
Extraktionsmittel	Extrakt-ausbeute in g	Extrakt-ausbeute in %	Kleinste, am Menschen wirksame Dosis in g	% Ausbeute der Wirkstoffe, bezogen auf eine ca. 40prozentige Extraktausbeute des Extr. Rhei Ph. H. V und seiner kleinsten wirksamen Dosis von 0,5 g
Aether	15,0	1,5	1,5	4
Chloroform . . .	3,0	0,3	0,5	0,8
Azeton	96,0	9,6	—	—
Methylalkohol . .	50,0	5,0	1,0	6,2
Wasser	40,0	4,0	0,2	25
Total	204,0	20,4		36
Ph.H.V-Extrakt (60prozentiger Weingeist)	ca. 400,0	ca. 40,0	0,5	100

Es ist uns somit gelungen, zwar ein stark wirksames, wässeriges, von Anthrachinonen freies Extrakt herzustellen, das aber nicht die Gesamtheit der wirksamen Substanzen des Rhabarbers enthält. Trotzdem wurde nun versucht, dieses Extrakt noch weiter zu fraktionieren, um wenn möglich die wirksame Substanz daraus zu isolieren.

Nach den gemachten Erfahrungen liess sich die beste Trennung durch die Chromatographie erzielen. Ein Vorversuch ergab bei

Verwendung von Aluminiumoxyd als Adsorptionsmittel ein Chromatogramm mit schön differenzierten Zonen. Andere Adsorbentien, wie Floridin XXF, Calcium carbonicum, Talk, versagten aus den früher schon erwähnten Gründen. Ebenso konnte auch hier kein anderes Lösungsmittel als Wasser verwendet werden.

Es wurde daher ein grösseres Chromatogramm hergestellt. Die Dimensionen der Aluminiumoxydsäule betrugen 5×32 cm. 50,0 g einer 2prozentigen, so klar als möglich filtrierten wässerigen Lösung des Wasserextraktes wurden adsorbiert. Die Flüssigkeit lief ausserordentlich langsam durch und ergab eine Säule mit folgenden Zonen:



Da in diesem Chromatogramm die Unterscheidung der Zonen im ultravioletten Licht unvergleichlich viel besser war als bei gewöhnlichem Tageslicht, wurde die Säule unter der Quarzlampe in ihre Bestandteile zerlegt. Die einzelnen Zonen wurden mehrmals mit 10prozentigem Alkohol auf dem Wasserbade gut ausgezogen, zweimal durch Doppelfilter gegossen und in Kristallisierschälchen langsam eindunsten gelassen. Es entstanden dabei folgende Eluate:

Zone I bestand aus einem braunen, undeutlich kristallinen Rückstand. Ein Umkristallisieren aus 10prozentigem Alkohol ergab denselben braunen Rückstand, der unter dem Polarisationsmikroskop deutliche büschelförmige Kristalleinschlüsse erkennen liess.

Zone II bestand aus dunkelroten, leicht bitteren Schlieren, die sehr undeutliche kristalline Einschlüsse aufwiesen.

Zone III bestand aus braunroten, nichtkristallinen Schlieren.

Zone IV hinterliess einen braunroten Rückstand mit dunkleren Klümpchen, diese erwiesen sich unter dem Polarisationsmikroskop als gelbe und tief orange leuchtende Farbschlieren mit viel kristallinen Einschlüssen. Es konnten drei voneinander ganz verschiedene Kristallarten deutlich erkannt werden, nämlich

derbe, kurze Balken

neben reichlich Kristallsand

und zahllosen sehr
langen, feinen Nadeln

Zone V hinterliess einen rotbraunen, aromatisch riechenden Rückstand, in dem sich reichlich kristalline Einschlüsse vorfanden. Die beidseitig eingekerbten Balken waren darin vorherrschend.

Zone VI und Zone VII waren nicht voneinander zu trennen, da sie mehr oder weniger ineinander übergingen. Sie wurden daher zusammen eluiert. Es ergab sich dabei ein hellbrauner Rückstand, der reichlich kristalline Einschlüsse in Form von vier- bis mehrteiligen Rosetten besass.

Zone VIII (=Durchlauf) bildete einen gelben Rückstand, der ebenfalls sehr viel kristalline Einschlüsse in Form von spindelförmigen bis nadelartigen Gebilden aufwies.

Die Rückstände waren alle viel zu gering, als dass mit Erfolg weitere Umkristallisationen hätten vorgenommen werden können. Es wurde

daher zwecks besserer Ausbeute an obigen Kristallen eine grössere Menge Wasserextrakt chromatographiert.

In einer Säule von 5×50 cm adsorbierte man 400,0 g einer 5prozentigen wässerigen Lösung, entsprechend 20,0 g Trockenextrakt, des obigen Wasserextraktes an Aluminiumoxyd. Dank guter Filtration lief die etwas schleimige Lösung gut durch die trocken eingefüllte Säule hindurch, ohne dass ein Vakuum angesetzt zu werden brauchte. Es ergab sich, wie zu erwarten war, genau die gleiche Zonenfolge wie beim Probechromatogramm (siehe Seite 67). Nachdem ein Tag lang Luft durchgesaugt worden war, konnte die feuchte Säule ohne Schwierigkeiten aus der Glasröhre herausgeklopft und unter der Quarzlampe in ihre Bestandteile zerlegt werden.

Jede der sieben Zonen wurde auf dem Wasserbade mehrmals mit einem Gemisch von Aethyl- und Methylalkohol zu je 10 % in Wasser eluiert. Als das Elutionsmittel dann farblos geworden war, wurde mehrmals durch Doppelfilter filtriert und dann im Vakuum bei niedriger Temperatur eingedampft. Was durch die Säule hindurchgelaufen war und sich in der Saugflasche als gelbliche Lösung gesammelt hatte, wird als Zone VIII bezeichnet. Diese wurde bloss noch filtriert und wie oben eingedampft.

Da die Ausbeute mit diesem Elutionsgemisch relativ schlecht war, wurde anschliessend versucht, mit einer flüchtigen Säure zu eluieren, wobei eine Säure gewählt wurde, die sich beim Eindampfen nicht konzentriert. Hierfür erwies sich Ameisensäure als geeignet, die in einer Konzentration von 1 % das Gemisch schwach sauer machte. In der Folge zeigte es sich jedoch, dass die Rückstände von den ameisensauren Eluaten sehr gering waren und dass man sie nicht trocken erhalten konnte. Sie blieben als sirupöse, schmierige Massen zurück, in denen sich trotz verschiedener Fällungs- und Reinigungsversuche, abgesehen von ein paar verschwommenen Gebilden, keine Kristalle abschieden.

Andere Elutionsmittel, wie Aether, Chloroform, Azeton, Benzol, Petroläther usw., vermochten überhaupt nichts aus den Zonen herauszulösen.

Mit 10prozentigem Pyridin erhielt man bloss Spuren an Rückständen, die nicht weiter aufgearbeitet werden konnten.

Zuletzt versuchte man Dioxan (= Diäthylendioxyd)[50], das als Lösungsmittel in der modernen Technik eine Rolle spielt. Der Erfolg der Elution war jedoch auch hier gleich Null.

Wir mussten uns daher mit den Eluaten begnügen, die beim Ausziehen mit dem Gemisch aus Alkohol und Methylalkohol angefallen waren. Die Eluate der verschiedenen Zonen lieferten Rückstände in folgenden Mengenverhältnissen:

Zone	I	= 0,4 g
Zone	II	= 0,3 g
Zone	III	= 0,5 g
Zone	IV	= 1,3 g
Zone	V	= 0,2 g
Zone	VI	= 0,4 g
Zone	VII	= 0,9 g
Zone	VIII	= 1,1 g
	Total	= 5,1 g

Hier liegt nun die Frage nahe, ob nicht durch die Wahl eines anderen Adsorptionsmittels, abgesehen von den früher genannten (siehe Seite 67), oder gar durch eine andere Trennungsmethode als diejenige der Chromatographie ein besseres Resultat erreicht werden könnte. Leider konnten jedoch diesbezügliche Versuche nicht mehr angestellt werden, da das Wasserextrakt für das eben beschriebene Chromatogramm sozusagen aufgebraucht worden war.

Von jedem dieser oben zusammengestellten Rückstände wurden ungefähr $^2/_3$ als einmalige Dosis eingenommen, doch war nirgends auch nur die geringste abführende Wirkung zu verspüren. Möglicherweise tritt die Wirkung erst bei der Einnahme eines Gemisches dieser acht Gruppen ein. Die erhaltenen Mengen waren jedoch viel zu klein, da noch Kristallisationsversuche vorgesehen waren, um Experimente dieser Art zu unternehmen. Es ist auch möglich und sogar wahrscheinlich, dass die wirksame Substanz am Aluminiumoxyd fest adsorbiert bleibt. Ein Versuch am Menschen mit den restlichen Adsorbaten an Aluminiumoxyd schien uns etwas gewagt, zudem ist auch

[50] Beilstein: Handb. d. org. Chemie, System Nr. 2668.

nicht sicher, ob im Magen-Darm-Kanal die wirksamen Substanzen aus dem Aluminiumoxyd wirklich «eluiert» würden.

Die Summe der Rückstände, die aus der Aluminiumoxydsäule mit dem obenerwähnten Alkoholgemisch herausgeholt werden konnten, belief sich also auf 5,1 g (siehe Seite 71), das sind etwas mehr als 25 % des chromatographierten Wasserextraktes, das 20,0 g betragen hatte. Die übrigen 75 % waren so stark adsorbiert, dass sie mit keinem der bekannten Elutionsmittel wieder zurückgewonnen werden konnten.

Die erhaltenen Rückstände waren sich sehr ähnlich, indem sie alle klebrige Sirupe oder dann harte Lacke mit kristallinen Einschlüssen bildeten. Um Wiederholungen zu vermeiden, sei hier allgemein vorausgeschickt, wie die Reinigung und Umkristallisation dieser Eluate erfolgte.

Es war ausserordentlich schwierig, reine Produkte mit festem Schmelzpunkt zu erhalten, da sowohl die Grundsubstanzen als auch die darin enthaltenen kristallinischen Gebilde nur in Wasser löslich, in allen gebräuchlicheren organischen Lösungsmitteln dagegen, wie Alkohol, Aether, Chloroform, Petroläther, Benzol und Essigäther usw., vollkommen unlöslich waren. Eine fraktionierte Kristallisation kam daher nicht in Frage, hingegen konnte ein grosser Teil der klebrigen Stoffe auf einfache Art entfernt werden. Die Eluate wurden in Wasser gelöst und auf dem Wasserbade erwärmt, wobei oft schon eine Ausflockung eintrat, welche abfiltriert wurde. In Wasser war das Ausgeflockte nicht ohne weiteres löslich, wohl aber auf Zusatz von Essigsäure. Es könnte sich also um Eiweissstoffe handeln. Dies wurde bestätigt mit der Millonschen Eiweissreaktion, wobei beim Erwärmen Rotfärbung entstand[51]. Die durch Filtrieren von den Eiweisskörpern befreite heisse, wässerige Lösung wurde nun mit kaltem, konzentriertem Alkohol versetzt. Es entstanden in allen Fällen mehr oder weniger dicke Gallerten, die, abfiltriert, zu einer gummiartigen, elastischen Masse eintrockneten. Diese war in Wasser löslich und gab mit Bleiessig einen dicken Niederschlag. Es könnte sich um Stoffe vom Charakter eines Gummis oder Pektins han-

[51] Rosenthaler: Nachweis org. Verbindungen 1914, S. 902.

deln. Diese Ansicht wurde auch erhärtet durch die Bildung einer dicken Gallerte mit Borax und Eisenchlorid[52]. Nach Hydrolyse trat mit Phlorogluzin und Salzsäure die für Pentosen typische Rotfärbung auf.

Die nun auf diese Weise von Eiweiss- und Schleimsubstanzen befreiten, wässerigen Lösungen der Eluate wurden dann warm mit Tierkohle entfärbt und nach Filtration zur Kristallisation beiseitegestellt. Die Kristalle erschienen überall erst nach vollständigem Verdunsten des Wassers.

Während mehrerer Tage wurden diese klebrigen Rückstände im Schwefelsäure-Vakuum-Exsikkator belassen und dann der Schmelzpunkt bestimmt. Es konnten nur sehr unscharfe Schmelzpunkte erhalten werden. Die klebrige Masse, in welche die Kristalle eingebettet waren, schmolz bald und verkohlte, was das Beobachten eines genauen Schmelzpunktes trotz Polarisationseinrichtung sehr erschwerte. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heissem Wasser und Tierkohle, wobei erhebliche Verluste eintraten, gelangte man zu Substanzen, die innerhalb eines Schmelzpunktintervalles von 1—3 ° schmolzen. Die nach diesen Operationen erhaltenen Kristalle waren in so winzigen Mengen vorhanden, dass es nicht möglich war, ausser der Bestimmung des Schmelzpunktes zwecks Identifizierung anderweitige Reaktionen mit ihnen anzustellen.

In der Folge seien nun die Kristallformen und Schmelzpunkte der einzelnen Zonen angegeben, die sich aus den Eluaten nach den eben beschriebenen Reinigungsmethoden ergeben hatten.

Die Untersuchung der Zone I ergab aus dem schwarzbraunen Extrakt, das Massen winziger Kriställchen enthielt, nach mehrfachen Umkristallisationen einen weissen Rückstand, der als einziger der acht Zonen nicht klebrig war. Er bestand aus von blossem Auge sichtbaren grossen Kristallen, die von einem strahligen Kranz umgeben waren. Diese Substanz schmolz nicht, sondern verkohlte nur. Eine kleine Probe, auf einer Porzellanscherbe geglüht, wurde schwarz, blieb aber dann als weisser Rückstand zurück, dessen Geschmack salzig war. Die Vermutung, es handle sich um ein Salz, wurde fol-

[52] Rosenthaler: Qual. pharm. Analyse, S. 32.

gendermassen bestätigt: Ein paar Körnchen der schwerlöslichen Substanz wurden in heissem Wasser gelöst. Diese Lösung reagierte leicht sauer. Man säuerte sie an und schüttelte dreimal mit wenig Aether aus. Der Aether wurde verdunsten gelassen, und es hinterblieb dabei eine weisse Masse, welche die Reaktionen auf Weinsäure nach Rosenthaler positiv gab[53]: 1. Violettfärbung von einer Lösung mit Ferrosulfat, sehr verdünntem Wasserstoffsuperoxyd und Kalilauge. 2. Rotfärbung beim Erhitzen mit Resorzin-Schwefelsäure.

Die wässerige Schicht der Ausschüttelung hinterliess ebenfalls einen weissen Rückstand, der deutlich die Flammenfärbung des Kaliums zeigte. Mit Kupfer-Bleinitrit-Reagens[54] bildeten sich die für Kalium typischen schwarzen Würfel von Kaliumkupferbleinitrit.

Es muss sich also beim Eluat der Zone I um ein Kaliumtartrat handeln, und zwar, zufolge der Schwerlöslichkeit und der sauren Reaktion der Lösung, wohl um Kaliumbitartrat.

Das Eluat aus der Zone II ergab 0,3 g eines schwarzbraunen, bitteren Rückstandes, der sich in Wasser mit tiefroter Farbe löste. Nach verschiedenen Umkristallisationen erhielt man zuletzt einen Lack, der Kristalle in Form von grossen Büscheln und Zweigen enthielt. Der Schmelzpunkt dieser Kristalle lag bei 155—157 °.

Aus Zone III fielen 0,3 g eines tief dunkelroten Rückstandes an, in dem sich grosse, tannenastähnliche Kristallgebilde befanden, die bei den verschiedenen Umkristallisationen ihre Form änderten und zuletzt als spitze Kristallfragmente nebst sehr derben, langen Nadeln vorlagen. Der Schmelzpunkt stieg dabei bis auf 165—166 °.

Das Eluat der Zone IV hinterliess 1,3 g eines ebenfalls dunkelroten, klebrigen Rückstandes, in dem sich bald grosse Kristalle, bestehend aus sehr langen, verzweigten Nadeln, entwickelten. Nach mehrmaligen Umkristallisationen hinterblieb zuletzt ein harter Lack, in dem lange, ausserordentlich derbe Nadeln und eckige Kristallfragmente in grosser Zahl vorhanden waren. Der Schmelzpunkt war scharf und lag bei 166 °.

Das Eluat der Zone V enthielt nur wenig, nämlich 0,2 g eines

[53] Rosenthaler: Qual. pharm. Analyse, S. 62.
[54] Rosenthaler: Qual. pharm. Analyse, S. 5.

dunkelbraunen Extraktes mit sehr wenigen Kristallen von ähnlicher Form, wie die aus Zone IV erhaltenen. Der Schmelzpunkt derselben lag bei 165—167 °.

Aus der Zone VI fielen 0,4 g Extrakt an. Dieses war sehr dunkel und bitter und hatte zahlreiche winzige Rosetten eingeschlossen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren wurde ein hellgelber Lack erhalten, der die gleichen Rosetten wie am Anfang enthielt, nur dass diese durch das Reinigen regelmässiger und grösser geworden waren. Ihr Schmelzpunkt lag bei 180 °.

Der Rückstand von Zone VII betrug 0,9 g und war von schwarzer Farbe und nicht hygroskopisch. Die undeutlichen Kristalle konnten zu regelmässigen, vierteiligen Rosetten umkristallisiert werden, die bei 181 ° schmolzen.

Der als Zone VIII bezeichnete Durchlauf aus der Säule ergab bei Eindampfen im Vakuum und Kristallisieren 1,1 g eines hellbraunen, salzigen Extraktes, das mit Kristallen in Form von Zitronenkernen angefüllt war. Nach oftmaligem Umkristallisieren erhielt man einen hellgelben, klebrigen Rückstand von sehr salzigem Geschmack, in dem sehr lange, dünne, zum Teil verzweigte Nadeln in Massen vorlagen. Ihr Schmelzpunkt lag bei 165—168 °.

Im nachstehenden sei über die Schmelzpunkte der Zonen eine Zusammenstellung angeführt, aus der ersichtlich ist, dass einige von ihnen miteinander identisch sein könnten.

Tabelle 28 **Zusammenstellung der Schmelzpunkte und Kristallformen der Zonen aus dem chromatographierten Wasserextrakt**

Zone	Schmelzpunkt	Kristallform
I	—	kranzförmige Gebilde
II	155—157 °	verästelte Zweige
III	165—166 °	derbe Nadeln
IV	166 °	derbe Nadeln
V	165—167 °	derbe Nadeln
VI	179—181 °	mehrteilige Rosetten
VII	181 °	vierteilige Rosetten
VIII	166 °	feine lange Nadeln

Aus der Kristallform und dem sehr ähnlichen Schmelzpunkt kann eventuell geschlossen werden, dass die Substanzen aus Zone III, IV und V einerseits, und aus Zone VI und VII andererseits ein und denselben Stoff enthalten. Die Identität der Substanzen aus Zone III, IV und V konnte durch den Mischschmelzpunkt, der bei 166 ° lag, bewiesen werden. Bei den Substanzen aus Zone VI und VII dagegen war dies nicht möglich, da sich die Substanzen beim Stehen verflüssigt hatten und nicht mehr zur Kristallisation zu bringen waren.

Nachfolgend seien kurz die Bestandteile, die aus dem Wasserextrakt durch Chromatographie isoliert werden konnten, zusammengestellt:

1. Kaliumbitartrat.
2. Aus Zone II eine kristalline Substanz vom Schmelzpunkt 155 bis 157 °.
3. Aus Zone III, IV und V derbe Nadeln vom Schmelzpunkt 165 bis 167 °.
4. Aus Zone VI und VII Rosetten vom Schmelzpunkt 179—181 °.
5. Aus dem Durchlauf (= Zone VIII) feine Nadeln vom Schmelzpunkt 166 °, die mit der Substanz aus Zone IV infolge des ganz verschiedenen Adsorptionsortes kaum identisch sein können.

Leider waren, wie schon erwähnt, diese kristallinen Substanzen in so geringen Mengen vorhanden, dass keine weiteren Reaktionen damit vorgenommen werden konnten. Es müsste eine wesentlich grössere Drogenmenge aufgearbeitet werden, um am Ende für die Identifizierung genügende Mengen zu erhalten. Zudem scheinen diese Substanzen keine ausgesprochene Wirkung zu besitzen, denn die Eluate, aus denen sie isoliert wurden, erwiesen sich auch als unwirksam.

Zusammenfassend zu diesem Abschnitt ergibt sich folgendes Resultat. Es ist gelungen, ein Extrakt, das keine Anthrachinone und auch keine Anthrachinonglykoside enthält, und das ungefähr doppelt so stark wirkt wie das gewöhnliche Rhabarberextrakt, herzustellen. Allerdings enthält dieses wirksame Wasserextrakt aus den schon auf Seite 65 erläuterten Gründen nicht die gesamte wirksame Substanz von Rhabarber.

Eine weitere Fraktionierung dieses wirksamen Extraktes ist bis jetzt nicht gelungen. Es müsste eventuell versucht werden, dasselbe durch Behandlung mit noch anderen Lösungsmitteln oder durch Chromatographie mit anderen Adsorbentien zu fraktionieren. Der weitere und am ehesten erfolgversprechende Weg in dieser Richtung wird sein, in erster Linie ein Adsorptionsmittel zu suchen, das die gesamten adsorbierten Substanzen bei der Elution wieder abgibt, weil sonst die Gefahr besteht, wie dies bei der vorliegenden Untersuchung mit grösster Wahrscheinlichkeit der Fall war, dass die wirksamen Substanzen am Adsorptionsmittel fest adsorbiert bleiben.

Bevor aber die wirksame Substanz einmal isoliert und identifiziert sein wird, wird es wohl kaum möglich sein, stabile flüssige Rhabarberpräparate herzustellen.

III. Zusammenfassung der Resultate

I. Es wurden nach 4 verschiedenen Methoden Trockenextrakte aus Rhiz. Rhei hergestellt:
   1. Nach der Vorschrift der Ph. H. V (Extrakt B).
   2. Aus Handelsdroge, die durch halbstündiges Kochen mit verdünntem Weingeist stabilisiert worden war (Extrakt A).
   3. Aus Handelsdroge, die mit konzentriertem Weingeist wie oben stabilisiert worden war (Extrakt C).
   4. Aus frisch gegrabenem Rhizom nach erfolgter Stabilisation mit konzentriertem Weingeist (Extrakt D).
   5. Aus diesen Trockenextrakten wurden Fluidextrakte entsprechend der Vorschrift für Extr. Rhei fluidum der Ph. H. V bereitet.

II. Droge, Trockenextrakte und die daraus hergestellten Fluidextrakte wurden, mit Ausnahme der Extrakte D, die nur am Menschen geprüft wurden, sowohl an weissen Mäusen wie auch an Menschen auf ihre physiologische Wirkung untersucht. Dabei wurde festgestellt:
   1. Dass die minimale wirksame Dosis beim Menschen nur das Hundertfache der Dosis pro 20 g Maus beträgt. Dass also bei einem Durchschnittsgewicht von 60 kg der Mensch gegenüber den abführenden Stoffen des Rhabarbers ungefähr 30mal empfindlicher ist als die Maus.
   2. Ein Einfluss der Stabilisation auf die Wirksamkeit ist nicht nachweisbar. Alle Trocken- und frisch hergestellten Fluidextrakte weisen unter sich, sowohl bei den Mäusen als auch beim Menschen, praktisch dieselbe Wirkung auf (siehe Tabelle 16 auf Seite 28).
   3. Es tritt allgemein eine Steigerung der Wirksamkeit in der Reihenfolge Droge, Trockenextrakt, Fluidextrakt auf, und

zwar, wenn man von einer vereinzelten Unstimmigkeit absieht (Fluidextrakt C), parallel bei Mäusen und Menschen, wobei das Verhältnis von Mausdosis zur wirksamen Dosis beim Menschen 1:100 bestehen bleibt (siehe Tabelle 16 auf Seite 28).

So beträgt beim Menschen die kleinste wirksame Dosis für die Droge 2,0 g. Wenn man annimmt, was ungefähr den Tatsachen entspricht, dass aus der Droge 40 % ihres Gewichtes an Trockenextrakt gewonnen werden, so berechnet sich die kleinste wirksame Dosis des letzteren zu 0,8 g und diejenige des daraus bereiteten Fluidextraktes zu 2,3 g. Zur Erzielung einer sicheren Wirkung genügen aber schon 0,5 g bei den Trockenextrakten und 1,0 g bei den Fluidextrakten.

III. Es wurde die Haltbarkeit der Droge und der daraus bereiteten Präparate untersucht:

1. Die Droge und das unstabilisierte Extrakt B büssten auch bei sachgemässer Lagerung innerhalb von 2 Jahren 25 %, resp. das Extrakt B 20 %, ihrer Wirkung ein. Nach 4 Monaten und nach 12 Monaten Lagerung war noch kein nachweisbarer Wirkungsverlust eingetreten.

   Die stabilisierten Extrakte A und C wiesen nach 2 Jahren noch die unveränderte Wirkung auf.

   Bei den Trockenextrakten also wirkt sich die Stabilisation günstig aus, indem dieselben gegenüber dem Ph. H. V-Extrakt und der Droge praktisch unverändert haltbar sind.

2. Die Fluidextrakte hingegen weisen nach der Lagerung tiefgreifende Veränderungen auf.

   Bei allen Fluidextrakten nahm die Wirkung innerhalb von 4 Monaten stark ab, und sie deponierten alle mehr oder weniger. So stiegen die kleinsten wirksamen Dosen für den Menschen bei den

stabilisierten Fluidextrakten A	von 1,0 g auf 2,0 g
unstabilisierten Fluidextrakten B	von 1,0 g auf 2,5 g
stabilisierten Fluidextrakten C	von 1,0 g auf 2,0 g

Die aus stabilisierter Droge hergestellten Extrakte schliessen dabei etwas besser ab als das Ph.H.V-Extrakt B, aber die Stabilisation konnte die Zersetzung der wirksamen Substanzen keineswegs verhindern, höchstens etwas verzögern. Nach weiteren 12 Monaten waren sämtliche Fluidextrakte völlig unwirksam geworden.

3. Ob bei der Aufbewahrung die Fluidextrakte dem Luftsauerstoff, dem Glasalkali oder dem Licht ausgesetzt waren, bleibt auf den Wirkungsverlust ohne Einfluss. Nur die Sedimentation ist bei den Extrakten, die in alkaliabgebenden Flaschen aufbewahrt wurden, etwas stärker, was aber nicht verwunderlich ist, da sich dieses Sediment als zum grössten Teil aus Kalziumoxalat bestehend entpuppte.

4. Um die Frage abzuklären, ob etwa bei der Gewinnung und Trocknung der Handelsdroge schon eine Zersetzung stattgefunden hat oder nicht, die, wenn ja, in den Fluidextrakten einfach weiterläuft, wurde aus einer frisch gegrabenen Droge durch Stabilisation mit konzentriertem Weingeist ein Trockenextrakt D hergestellt, und die daraus bereiteten Fluidextrakte wurden analog den Fluidextrakten A, B und C gelagert. Aber auch das Fluidextrakt D verlor innerhalb von 7 Monaten seine Wirksamkeit vollständig, so dass die oben angetönte Frage verneint werden muss.

5. Es stehen nun nur noch zwei Möglichkeiten offen, nämlich: Entweder sind bei der Stabilisation nicht alle Fermente erfasst worden, oder sie sind nachträglich durch Pilz- oder Bakterienwachstum wieder hinzugekommen. Dafür sprach effektiv die Tatsache, dass sämtliche Extrakte noch Katalase enthielten, wenngleich die Menge bei den stabilisierten Extrakten gering war. Eine nachträgliche Infizierung mit Fermenten aber durch Bakterien oder Pilze schien sehr unwahrscheinlich, da sämtliche Fluidextrakte sich als praktisch keimfrei erwiesen.

   Um diese beiden Faktoren auszuschliessen, wurde eine Serie von Fluidextrakten in Ampullen gefüllt und ½ Stunde

im strömenden Dampf sterilisiert. Sofort nach der Sterilisation wiesen diese Ampullen die gleiche Wirksamkeit wie vorher auf, verloren aber in gleicher Weise ihre Wirkung innerhalb von 7 Monaten vollständig, obschon sie keimfrei, katalasefrei und somit fermentfrei waren. Da die Katalase bis heute als das thermostabilste Ferment bekannt ist, kann bei der Inaktivierung derselben angenommen werden, dass auch die übrigen Fermente desaktiviert wurden.

6. Auch *p*H-Bestimmungen der Fluidextrakte vor und nach der Lagerung gaben keinen Aufschluss über die Gründe des Unwirksamwerdens derselben. Bei allen Fluidextrakten blieb der *p*H während der ganzen Zeitdauer praktisch unverändert.

Die einzigen Möglichkeiten, die noch offen bleiben, sind die Annahme, dass das wirksame Prinzip durch das stark wasserhaltige Lösungsmittel, eventuell in Kombination mit dem relativ niedrigen *p*H von 4,5 der Fluidextrakte, eine Hydrolyse erleidet, oder dass andere autoxydative Vorgänge unbekannter Art für den Wirkungsverlust verantwortlich zu machen sind.

Es schien uns aber zur Klärung dieser letzten Frage unumgänglich notwendig, erst einmal den oder die Wirkstoffe von Rhiz. Rhei zu isolieren, um die Eigenschaften derselben in reinem Zustande studieren zu können. Ein Versuch, die Wirkstoffe zu isolieren, ergab folgendes:

IV. 1. Es gelang durch aufeinanderfolgendes Erschöpfen der Droge mit Aether, Chloroform, Azeton, Methylalkohol und Wasser ein gegenüber den Trockenextrakten A bis D ungefähr doppelt so stark wirksames und anthrachinonfreies Wasserextrakt zu gewinnen.

Dabei waren aber nur ca. 20 % der wirksamen Stoffe in diesem Extrakt vorhanden. Auch die Gesamtextraktausbeute aller Lösungsmittel zusammengenommen, ergab nur ungefähr die Hälfte der Gesamtextraktivstoffe gegenüber derjenigen der Extrakte A bis D (siehe Tabelle 27 auf Seite 66). Das Aether-, Chloroform- und Methylalkoholextrakt erwiesen sich auch

als wirksam, wenn auch in bedeutend geringerem Masse als das Wasserextrakt, während das Azetonextrakt, wahrscheinlich infolge seines grossen Gerbstoffgehaltes, direkt stopfend wirkte.

Interessant ist die Feststellung, dass das Wasserextrakt keine Leibschmerzen erzeugt, und dass diese drastisch wirkenden Substanzen sich zum grössten Teil im Aetherextrakt vorfinden müssen, dass es sich hier somit wahrscheinlich ähnlich wie bei Aloe um drastisch wirkende Harze handelt.

2. Eine weitere Aufteilung des stark wirksamen Wasserextraktes durch Chromatographie gelang nur unvollständig.

Weitaus der grösste Teil war dermassen fest am Aluminiumoxyd adsorbiert, dass er mit schonenden Mitteln nicht mehr eluiert werden konnte. Es müssen noch andere Adsorptionsmittel oder überhaupt andere Methoden als die Chromatographie zur Anreicherung und schliesslich zur Isolierung der wirksamen Rheumsubstanzen versucht werden.

Bei diesen Chromatographie-Versuchen wurden nebenbei folgende Substanzen gefunden, die aber mit Ausnahme von Kaliumbitartrat infolge ihrer geringen Menge nicht identifiziert werden konnten und bei denen indirekt (siehe Seite 71) keine abführende Wirkung nachweisbar war.

1. Kaliumbitartrat.
2. Eine Substanz vom Schmelzpunkt 165—167 °.
3. Eine Substanz vom Schmelzpunkt 179—181 °.
4. Eine Substanz vom Schmelzpunkt 166 °.

Substanz 2 und 4 dürften aber nicht identisch sein, da sie im Chromatogramm aus ganz verschiedenen Zonen isoliert wurden.

Curriculum vitae

Ilse Scherrer

Am 10. Januar 1915 wurde ich in Bern geboren. Daselbst absolvierte ich die Primarschule, hernach das Progymnasium und das Literargymnasium, welches ich im Herbst 1933 mit der Maturität verliess. Ich widmete mich hierauf an der Universität Bern dem Studium der Pharmazie, das ich nach einem Unterbruch von fünf Semestern praktischer Ausbildung im Frühling 1939 mit dem pharmazeutischen Staatsexamen abschloss. Anschliessend konnte, ebenfalls in Bern, die vorliegende Dissertation begonnen und im Frühling 1941 zu Ende geführt werden.